

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

PERİODONTAL AÇIDAN SAĞLIKLI VE  
PERİODONTAL HASTALIĞA SAĞIP BİREYLERDE  
TÜKÜRÜKTEKİ, İNTERLÖKİN-1 BETA (IL-1 $\beta$ ) ve  
İNTERLÖKİN-39 (IL-39) DÜZEYLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Mehmet Can KILINÇASLAN

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ

2021-ANTALYA

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

PERİODONTAL AÇIDAN SAĞLIKLIL VE  
PERİODONTAL HASTALIĞA SAĞIP BİREYLERDE  
TÜKÜRÜKTEKİ, İNTERLÖKİN-1 BETA (IL-1 $\beta$ ) ve  
İNTERLÖKİN-39 (IL-39) DÜZEYLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Mehmet Can KILINÇASLAN

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi  
tarafından TDH-2020-5396 proje numarası ile desteklenmiştir.

2021-ANTALYA

## ONAY SAYFASI

Mehmet Can KILINÇASLAN tarafından sunulan bu çalışma jürimiz tarafından **oy birliği/oy çokluğu** ile Periodontoloji Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir. .../...../.....

**İmza**

**Üye** : Prof. Dr. Abubekir ELTAS  
(Sağlık Bilimleri Üniversitesi)

**Üye** : Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ  
(Akdeniz Üniversitesi)

**Üye** : Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN  
(Akdeniz Üniversitesi)

**Üye** : Dr. Öğr. Üy. Özlem DALTABAN  
(Akdeniz Üniversitesi)

**Üye** : Dr. Öğr. Üy. Nezahat Arzu KAYAR  
(Akdeniz Üniversitesi)

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

**Diş Hekimliği Fakültesi**

**Kurum Yöneticisi**

## 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. Mehmet Can KILINÇASLAN**

İmza

Tez Danışmanı

**Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ**

İmza

## TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık tezimin hazırlanma sürecinde karşılaştığım her sorunda yanımda olan; samimiyetini, iyi niyetini ve desteğini asla esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ'e

Uzmanlık eğitimim boyunca desteğini asla esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşmaktan asla çekinmeyen, üzerimde çok fazla emeği olan anabilim dalı başkanı Sayın Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN'e

Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda desteğini hissettiğim, bilgi ve tecrübesiyle bana her daim yol gösteren Sayın Doç. Dr. Mükerrerem HATİPOĞLU'na

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

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

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum arkadaşlarım Uzm. Dt. Dilara Sezen KORANA, Uzm. Dt. Kazım KORKMAZ, Uzm. Dt. M. Serhat YILMAZ, Arş. Gör. Dt. Mustafa Burak DEMİRCİ, Arş. Gör. Dt. Murat ÇALIŞIR, Arş. Gör. Dt. Hilal KORKMAZ, Arş. Gör. Dt. Fatma KÖKSAL BABUN ve Dr. Dt. Zeliha AYTEKİN'e

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan her zaman büyük mutluluk duyduğum, klinik hemşirelerimiz Ulviye KAPLAN ve Derya SÜLÇE'ye, kliniğimizin kahramanları olan klinik personellerimiz Ahmet ÖZMEN ve Halil TURGUT'a

Artık çok uzaklarda olsa bile desteğini her zaman kalbimde hissettiğim ANNEME, bugünlere gelmem için çok fazla emek ve destek veren aileme, en büyük destekçilerimden olan nişanlım Özge GÜLCÜ'ye,

Teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, periodontal açıdan sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerde tükürükteki, İnterlökin-1 Beta (IL-1 $\beta$ ) ve İnterlökin-39 (IL-39) düzeylerinin belirlenmesi, gruplar arası karşılaştırılması ve periodontal klinik parametrelerle bu sitokinlerin ilişkisinin değerlendirilmesidir.

**Yöntem:** Bu çalışmaya, sistemik olarak sağlıklı ve sigara içmeyen 99 birey (33 periodontal açıdan sağlıklı, 33 gingivitis, 33 periodontitis) dahil edilmiştir. Bireylerin plak indeks (PI), gingival indeks (GI), sondlamada cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), sondlamada kanama (SK) klinik parametreleri ölçülmüştür. Tüm bireylerden uyarılmamış tükürük örnekleri toplanmıştır. Toplanan tükürük örneklerindeki IL-1 $\beta$  ve IL-39 seviyeleri enzim bağılı immün absorban yöntem (ELİSA) ile tespit edilmiştir. Elde edilen veriler SPSS 23.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir.

**Bulgular:** IL-1 $\beta$  seviyeleri ile klinik parametrelerin tamamı (PI, GI, SCD, KAS, SK) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.(p<0.05) Tükürük IL-1 $\beta$  seviyeleri açısından sağlıklı grup ile gingivitis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamış; bununla birlikte, periodontitis grubu ile hem gingivitis grubu hem de sağlıklı grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.(p<0.05) Gruplar arasında tükürük IL-39 seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.(p>0,05)

**Sonuç:** IL-1 $\beta$  seviyeleri periodontitis grubunda, hem sağlıklı gruba hem de gingivitis grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve IL-1 $\beta$  seviyeleri ile klinik periodontal parametreler arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. IL-39 seviyeleri ile gruplar ve klinik periodontal parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Güncel bir sitokin olan ve henüz hakkında çok fazla bilimsel veri bulunmayan IL-39 hakkında daha fazla sayıda bilimsel çalışma yapılmasına gereksinim duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Tükürük, periodontitis, IL-1 $\beta$ , IL-39

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study is to determine Interleukin-1 Beta (IL-1 $\beta$ ) and Interleukin-39 (IL-39) levels in saliva in individuals with periodontal health and periodontal disease, to compare between groups and to evaluate the relationship of these cytokines with periodontal clinical parameters.

**Method:** 99 systemically healthy non-smokers (33 periodontally healthy, 33 gingivitis, 33 periodontitis) were included in this study. Plaque index (PI), gingival index (GI), probing pocket depth (PPD), clinical attachment level (CAL), and bleeding on probing (BOP) clinical parameters were measured. Unstimulated saliva samples were collected from all individuals. IL-1 $\beta$  and IL-39 levels in collected saliva samples were determined by enzyme-linked immune absorbent method (ELISA). The obtained data were analyzed using the SPSS 23.0 program.

**Results:** A statistically significant correlation was found between IL-1 $\beta$  levels and all clinical parameters (PI, GI, PPD, CAL, BOP).( $p < 0.05$ ) No statistically significant difference was found between the healthy group and the gingivitis group in terms of salivary IL-1 $\beta$  levels; however, a statistically significant difference was found between the periodontitis group and both the gingivitis group and the healthy group. ( $p < 0.05$ ) No statistically significant difference was found between the groups in terms of salivary IL-39 levels. ( $p > 0.05$ )

**Conclusion:** IL-1 $\beta$  levels were found to be significantly higher in the periodontitis group compared to both the healthy group and the gingivitis group, and a significant correlation was found between IL-1 $\beta$  levels and clinical periodontal parameters. There was no significant relationship between IL-39 levels and groups and clinical periodontal parameters. There is a need for more scientific studies on IL-39, which is a current cytokine and there is not much scientific data about it yet.

**Keywords:** Saliva, periodontitis, IL-1 $\beta$ , IL-39

|   |      |
|---|------|
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                                      |      |
| <b>ÖZET</b>   | i    |
| <b>ABSTRACT</b>   | ii   |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                                      | iii  |
| <b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>                          | v    |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>                                  | vii  |
| <b>TABLolar DİZİNİ</b>                                  | viii |
| <b>1. GİRİŞ</b>   | 1    |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>                                | 4    |
| <b>2.1. Periodonsiyum Anatomisi</b>                     | 4    |
| <b>2.1.1. Dişeti</b>                                    | 4    |
| <b>2.1.2. Periodontal Ligament</b>                      | 5    |
| <b>2.1.3. Sement</b>                                    | 5    |
| <b>2.1.4. Alveolar Kemik</b>                            | 5    |
| <b>2.2. Periodontal Hastalıklar</b>                     | 5    |
| <b>2.3. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması</b> | 6    |
| <b>2.3.1. Periodontal Sağlık</b>                        | 7    |
| <b>2.3.2. Gingivitis</b>                                | 8    |
| <b>2.3.3. Periodontitis</b>                             | 9    |
| <b>2.3.4. Periodontal Hastalıkların Patogenezi</b>      | 14   |
| <b>2.3.4.1. Başlangıç Lezyonu</b>                       | 15   |
| <b>2.3.4.2. Erken Lezyon</b>                            | 15   |
| <b>2.3.4.3. Yerleşmiş Lezyon</b>                        | 15   |
| <b>2.3.4.4. İlerlemiş Lezyon</b>                        | 16   |
| <b>2.4. Sitokinler</b>                                  | 20   |
| <b>2.4.1. IL-1<math>\beta</math></b>                    | 22   |
| <b>2.4.2. IL-39</b>                                     | 23   |
| <b>2.5. Tükürük</b>                                     | 26   |
| <b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>                               | 28   |
| <b>3.1. Etik Kurul Onayı ve Resmi İzinler</b>           | 28   |
| <b>3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri</b>         | 28   |
| <b>3.3. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri</b>           | 29   |
| <b>3.4. Klinik Değerlendirmeler</b>                     | 29   |

|  |    |
|--|----|
| 3.4.1. Plak İndeksi  | 30 |
| 3.4.2. Gingival İndeks   | 30 |
| 3.4.3. Sondlanabilir Cep Derinliği   | 31 |
| 3.4.4. Klinik Ataşman Seviyesi   | 31 |
| 3.5. Biyokimyasal Analizler  | 31 |
| 3.5.1. Tükürük Örneklerinin Toplanması   | 31 |
| 3.5.2. Tükürük Örneklerinin Hazırlanması   | 32 |
| 3.5.3. Tükürük Örneklerinin Biyokimyasal Analizi   | 32 |
| 3.5.3.1. IL-1 $\beta$ Seviyelerinin Belirlenmesi   | 33 |
| 3.5.3.2. IL-39 Seviyelerinin Belirlenmesi  | 36 |
| 3.6. İstatistiksel Analizler   | 37 |
| <b>4. BULGULAR</b>   | 38 |
| 4.1. Demografik Bulgular   | 38 |
| 4.2. Gruplar Arası Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması                               | 39 |
| 4.3. Gruplar Arası Tükürük IL-1 $\beta$ ve IL-39 Seviyelerinin Karşılaştırılması         | 41 |
| 4.4. Tükürük IL-1 $\beta$ , IL-39 Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler | 43 |
| <b>5. TARTIŞMA</b>   | 46 |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>  | 54 |
| <b>KAYNAKLAR</b>   | 55 |
| <b>EKLER</b>   | 66 |
| EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi   | 66 |
| EK-2 Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu  | 68 |
| EK-3 Hasta Anamnez ve Periodontal İndeks Formu   | 71 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>  | 72 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR

|        |  |
|--------|--|
| Aa     | Aggregatibacter Actinomycetemcomitans      |
| AAP    | Amerikan Periodontoloji Akademisi          |
| AP     | Aktivatör Protein                          |
| Ca     | Kalsiyum                                   |
| Cl     | Klor                                       |
| DAMP   | Damage Associated Molecular Pattern        |
| DOS    | Dişeti Oluğu Sıvısı                        |
| DSÖ    | Dünya Sağlık Örgütü                        |
| EBI3   | Epstein Barr Virus İnduced 3               |
| ELISA  | Enzym Linked-Immuno-Sorbent Assay          |
| Gİ     | Gingival İndeks                            |
| Hb     | Hemoglobin                                 |
| HsCRP  | High Sensitivity C Reactive Protein        |
| IFN    | İnterferon                                 |
| Ig     | İmmunoglobulin                             |
| IGF    | Insulin-Like Growth Factor                 |
| IL     | İnterlökin                                 |
| IL-1Ra | Interleukin-1 Receptor Antagonist          |
| K      | Potasyum                                   |
| KAS    | Klinik Ataşman Seviyesi                    |
| LPS    | Lipopolisakkarit                           |
| µl     | Mikrolitre                                 |
| MHC    | Major Histocompatibility Complex           |
| ml     | Mililitre                                  |
| mm     | Milimetre                                  |
| MMP    | Matriks metalloproteinaz                   |
| Na     | Sodyum                                     |
| NF-κB  | Nuclear Factor Kappa B                     |
| NMOSD  | Nöromiyelitis Optika Spektrum Bozuklukları |
| NND    | İnflamatuvar Olmayan Nörolojik Bozukluklar |
| OD     | Optical Density                            |
| OPG    | Osteoprotegerin                            |

|                  |   |
|------------------|---|
| PDL              | Periodontal Ligament  |
| PAMP             | Pathogen Associated Molecular Patterns                          |
| pg               | Pikogram  |
| PGN              | Peptidoglikan   |
| PGE <sub>2</sub> | Prostaglandin E <sub>2</sub>                                    |
| Pİ               | Plak İndeksi  |
| PMNL             | Polimorfonükleer Lökositler                                     |
| PRR              | Pattern Recognition Receptors                                   |
| P.gingivalis     | Porphyromonas Gingivalis  |
| RANTES           | Regulated Upon Activation, Normal T Cell Expressed And Secreted |
| RRMS             | Tekrarlayan-Düzelen Multipl Skleroz                             |
| SCD              | Sondlanabilir Cep Derinliği                                     |
| SK               | Sondlamada Kanama   |
| SLE              | Sistemik Lupus Eritematozus                                     |
| sn               | Saniye  |
| TGF              | Transforming growth factor                                      |
| Th               | Yardımcı T hücresi  |
| TLR              | Toll-Like Reseptör  |
| TNF              | Tumor Necrosis Factor   |
| T. denticola     | Treponema Denticola   |
| T. forsythia     | Tannerella Forsythia  |
| ° C              | Santigrat Derece  |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1.** Periodonsiyumun Anatomisi
- Şekil 2.2.** Periodontitis Patogenezi
- Şekil 2.3.** İnterlökin IL-1 $\beta$ 'nın periodontitisteki rolü
- Şekil 2.4.** IL-39 sinyal yolu
- Şekil 2.5.** Tükürüğün Fonksiyonları
- Şekil 3.1.** Williams Periodontal Sondu
- Şekil 3.2.** A) Soldan sağa sırayla Falkon tüpü- Pastör pipeti- Eppendorf tüpü B) Santrifüj cihazı
- Şekil 3.3.** Çalışmamızda kullanılan Elisa kitleri (IL-1 $\beta$  ve IL-39)
- Şekil 3.4.** Plakanın mikropılaka yıkayıcıda yıkanması
- Şekil 3.5.** Plakanın çalkalayıcıda inkübe edilmesi
- Şekil 3.6.** Durdurma solüsyonu eklenmesiyle mavi rengin sarı renge dönüşümü
- Şekil 3.7.** Mikropılaka okuyucu kullanılarak 450 nm'de Optik Yoğunluğun Belirlenmesi
- Şekil 4.1.** Yaş Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı
- Şekil 4.2.** Grupların Cinsiyete Göre Dağılımı
- Şekil 4.3.** IL-1 $\beta$  Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı
- Şekil 4.4.** IL-39 Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı
- Şekil 4.5.** Tükürük IL-1 $\beta$  Seviyeleri ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki
- Şekil 4.6.** Tükürük IL-39 Seviyeleri ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

## TABLULAR DİZİNİ

- Tablo 2.1.** 2017 Yılında Kabul Edilen Periodontal Hastalıkların ve Durumların Sınıflandırılması
- Tablo 2.2.** Periodontitis Evreleme
- Tablo 2.3.** Periodontitis Derecelendirme
- Tablo 2.4.** Antiinflamatuvar Aktivite Gösteren Bazı Sitokinler ve Hücrel Kaynakları
- Tablo 2.5.** Proinflamatuvar Aktivite Gösteren Bazı Sitokinler ve Hücrel Kaynakları
- Tablo 4.1.** Gruplara Ait Demografik Veriler
- Tablo 4.2.** Klinik Parametrelerin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması
- Tablo 4.3.** Tükürük IL-1 $\beta$  ve IL-39 Seviyelerinin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması
- Tablo 5.1.** Farklı ELISA Yöntemlerinin Avantaj ve Dezavantajları

## 1. GİRİŞ

Diş destekleyen dokular olarak tanımlanan periodonsiyum; sement, periodontal ligament, alveolar kemik ve dişetinden oluşur.<sup>(1)</sup> Bu dokularda görülen kronik iltihabi durumlar “Periodontal Hastalık” olarak adlandırılır.<sup>(2)</sup> Periodontal hastalıklar toplumlarda oldukça yaygın görülebilmektedir ve dünya nüfusunun büyük bir kısmını etkileyebilmektedir.<sup>(3)</sup>

Plak kaynaklı periodontal hastalıklar olan gingivitis ve periodontitis kronik inflamatuvar durumlardır ve periodonsiyumun farklı kesimlerini belirgin şekilde etkilerler. Gingivitiste bu inflamatuvar durum dişeti ve bağ dokusuyla sınırlıdır.<sup>(4)</sup> Periodontitiste ise bağ dokusu kaybına ek olarak alveolar kemiğin kaybı da gözlenir ve erişkin toplumunda diş kaybının en önemli sebebidir.<sup>(3)</sup>

Gingivitis dental biyofilmin oluştuğu bölgelerde görülür. Etkilenen bölgelerde kızarıklık, ödem ve kanama görülebilir.<sup>(5)</sup> Buna rağmen etkilenen bölgelerde ataşman kaybı görülmez.<sup>(6)</sup> Çoğunlukla ağrısızdır ve nadiren spontan kanama ile seyreder.<sup>(7)</sup>

Periodontitis çeşitli etyolojik etkenlerin hazırlayıcı bir rol üstlendiği karmaşık bir hastalıktır.<sup>(8)</sup> Bakteri plağı hazırlayıcı bir etkendir ve periodontal dokularda inflamasyonla karakterize bir süreci başlatır.<sup>(9)</sup> Daha sonra inflamasyonun daha derin dokulara ulaşması sonucu bağ doku ve alveolar kemik kaybı görülür.<sup>(3)</sup> Fakat periodontitis periodontal yıkıma yol açan basit bir bakteriyel enfeksiyon olarak kabul edilmemelidir. Bunun ötesinde konağın bağışıklık sistemi, subgingival mikrobiyota ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimleri içeren karmaşık hastalıkların tamamı olarak düşünülmelidir.<sup>(10)</sup> Hem dental plakta hem de konağın genetiği ve bağışıklık sisteminde sayısız varyasyonların bulunmasından dolayı bu etkileşimlerin çözülmesi oldukça karmaşıktır.<sup>(11)</sup>

Periodontal hastalık; hastalığın şiddeti, karmaşıklığı ve ağız içi yayılımı göz önüne alındığında 4 evreden oluşur. Başlangıç periodontitis (1. evre) 1-2 mm ataşman kaybı, dişin koronalinde yüzde 15'ten daha az kemik kaybı ile karakterizedir ve bu evrede periodontal hastalığa bağlı diş kaybı görülmez. Orta şiddetli periodontitiste (2. evre) 3-4 mm ataşman kaybı vardır. Yüzde 15-33'lük bir kemik kaybı bulunur fakat diş

kaybı görülmez. Şiddetli periodontitisde (3. evre) 5 mm veya daha fazla ataşman kaybı ve kökün orta veya apikal üçlüsüne ulaşan kemik kaybı mevcuttur ve periodontitise bağlı diş kaybı gözlenir (maksimum 4 diş). Aşırı şiddetli periodontitisde ise (4. evre) 5 mm veya daha fazla ataşman kaybı, kökün orta veya apikal üçlüsüne uzanan kemik kaybı ve 5 veya daha fazla dişin kaybı gözlenir.<sup>(12)</sup>

Sitokinler, doğuştan gelen bağışıklık, antijen sunumu, kemik iliği farklılaşması, hücresel aktivasyon ve adezyon moleküllerinin ekspresyonu dahil olmak üzere, bağışıklık ve enflamasyonun hemen hemen her yönüyle ilgili düşük molekül ağırlıklı glikoproteinlerdir.<sup>(13)</sup>

Sitokinler gingivitisde iltihabi yanıtta, periodontitisde ise patojenlere karşı ilk cevabın oluşmasında ve hastalığın ilerlemesinde son derece önemli bir role sahiptir.<sup>(14, 15)</sup>

Proinflamatuvar bir sitokin olan interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interlökin-1 (IL-1)'in temel formlarından birisidir ve vücutta çok çeşitli biyolojik aktivitelere katılır.<sup>(16)</sup> Esas olarak makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından eksprese edilir. Bununla birlikte, gingival fibroblastlar, periodontal ligament hücreleri ve osteoblastlar da IL-1 $\beta$  salgılayabilir.<sup>(17)</sup> IL-1 $\beta$ , periodontitisde inflamasyona, immün regülasyona ve kemik yıkımına katılır. IL-1 $\beta$ 'nın biyolojik etkileri, periodontitisde yükselen doku konsantrasyonuna bağlıdır. Sağlıklı bireylere kıyasla periodontitisli hastaların tükürük ve dişeti oluğu sıvısında (DOS) IL-1 $\beta$  seviyeleri sıklıkla yükselmiş olarak saptanır.<sup>(18)</sup> Ayrıca, periodontitis hastalarında serumda yüksek seviyelere ulaşan IL-1 $\beta$  sistemik etkilere de sebep olabilir.<sup>(19)</sup>

İnterlökin 39 (IL-39) yakın zamanda keşfedilen sitokinlerden birisidir. İnterlökin-12 (IL-12) ailesine aittir ve IL-12'nin IL-23p19 ve EB13 alt birimlerinden oluşur.<sup>(20)</sup> IL-39, STAT1 / STAT3 sinyal moleküllerini IL-23R / gp130 reseptörüne bağlayarak aktive eder ve inflamatuvar tepkilere aracılık eder.<sup>(21)</sup> IL-39'un otoimmün hastalıkların patojenik özelliklerinin ortaya çıkmasında büyük öneme sahip olan nötrofillerin farklılaşmasını ve/veya üretimini indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca, IL-39 ile indüklenen nötrofillerin, B hücresi aktivasyon faktörü salgıladığı ve aktive edilmiş B hücrelerinde IL-39 ekspresyonu üzerinde pozitif geri bildirim sağladığı gözlenmiştir.<sup>(20)</sup>

Deneysel olarak lupus oluşturulmuş farelerde, lupus benzeri hastalıklara aracılık eden aktive edilmiş B hücreleri tarafından salgılanan IL-39'un diğer IL-12 ailesi sitokinlerine kıyasla miktarının önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Bu bilgilere dayanarak IL-39'un SLE ve diğer otoimmün hastalıkların patofizyolojisinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir.<sup>(22)</sup>

Tükürük çok sayıda protein ve peptid içeren ve ağız boşluğunun bütünlüğünün korunmasından sorumlu sıvıdır. Başlıca tükürük bezlerinden (parotis, submandibular ve sublingual) ve birçok minor tükürük bezinden salgılanır. Oral biyofilm oluşumu ve konak savunmasındaki önemi nedeniyle tükürük, periodontal hastalığın oluşmasında ve ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır.<sup>(23)</sup>

Günümüzde periodontal hastalıkların teşhisi, klinik periodontal parametrelerin değerlendirilmesi ve radyografik incelemeler ile yapılmaktadır. Bu yöntemlerin dezavantajı, sadece uygulandığı zaman dilimi hakkında bilgi vermesidir. Bu sebeplerden ve diğer tanı yöntemlerine kıyasla daha kolay şekilde toplanabilmesinden dolayı, hastalık aktivitesinin belirlenmesi ve risk taşıyan bireylerin önceden tespit edilmesi amacıyla tükürük örnekleri teşhis seçeneği olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.<sup>(24-26)</sup>

Literatür taraması yapıldığında tükürük IL-39 seviyesi ile periodontal hastalık ilişkisini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı, periodontal hastalıklarda tükürük IL-39 seviyelerini tespit ederek, tükürük IL-1 $\beta$  ve klinik periodontal parametrelerle karşılaştırılması sonucunda IL-39'un periodontal hastalıkların patogenezindeki rolünün belirlenmesidir.



Yapışık dişeti marjinal dişetinin devamını oluşturur. Sağlam ve esnek yapısıyla alveol kemiğin periostuna sıkıca bağlıdır. Apikal olarak alveolar mukozaya kadar uzanır ve bu yapıdan mukogingival birleşim denilen yapı ile ayrılır.

İnterdental dişeti ise dişler arasındaki bölgeyi dolduran dişeti kısmıdır.<sup>(27)</sup>

### **2.1.2. Periodontal Ligament**

Periodontal ligament iki minarelize yüzey olan diş kökü ve alveolar kemiği birbirine bağlayan ağsı yapıdır.<sup>(31)</sup> Periodontal ligamentin en önemli elemanları, kollajenöz ve demetler halinde düzenlenmiş, uzunlamasına kesitte bakıldığında dalgalı bir seyir izleyen ana liflerdir. Sement ve alveol kemiğiyle bağlantı kuran terminal bölümüne Sharpey Lifleri denir. Periodontal ligament, kan damarları yoluyla sement, alveolar kemik ve dişetine besin sağlar.<sup>(27)</sup> Diş ve alveolar kemiğini çiğneme ilişkili yüksek kuvvetlerin yarattığı hasarlardan koruyarak amortisör görevi görür ve mekanik bir stabilite sağlar.<sup>(31)</sup>

### **2.1.3. Sement**

Sement; diş kökü çevresini saran periodontal ligament (PDL) ve alveolar kemik arasındaki bağlantıyı sağlayan dokudur. Sement dişin dentin yüzeyini diş kısmından kaplar. Avasküler bir dokudur ve aselüler (primer dentin) ve selüler (sekonder dentin) kısımları içerir.<sup>(32)</sup>

### **2.1.4. Alveolar Kemik**

Alveolar kemik, maksilla ve mandibulada diş soketlerini oluşturan ve dişlere birincil desteği sağlayan kısımdır. Dış tarafındaki Haversian kemik tarafından oluşturulan kortikal kısım, alveolar soketin iç kısmını oluşturan radyografilerde lamina dura olarak görülen kompakt kısım ve bu iki tabaka arasındaki süngerimsi kısımdan oluşur.<sup>(27)</sup>

## **2.2. Periodontal Hastalıklar**

“Periodontal Hastalıklar” terimi dişeti, alveolar kemik ve periodontal ligamaneti etkileyen çok çeşitli kronik inflamatuvar durumları kapsar.<sup>(33)</sup> Toplumlarda oldukça yaygın görülebilmektedir ve dünya nüfusunun oldukça büyük bir kısmını

etkileyebilmektedir.<sup>(3)</sup> Hastalık çocukluk çağları veya ergenlikte başlayabilir, ancak genellikle erken yetişkinlikte ve bazen de sonraki yıllarda ortaya çıkar.<sup>(34)</sup>

Plak kaynaklı periodontal hastalıklar olan gingivitis ve periodontitis oldukça yaygın olan kronik inflamatuvar durumlardır ve periodonsiyumun farklı kesimlerini belirgin şekilde etkilerler.<sup>(35)</sup>

Periodontal hastalıklar, diş ve dişeti üzerinde oluşan mikrobiyal bir biyofilm tabakası olan plaktaki bakteriler tarafından oluşturulan lokalize dişeti iltihabı (gingivitis) ile başlar. Periodontitiste ise tedavi edilmeyen dişeti iltihabı, kemik ve bağ dokusuna ilerler ve hastalığın ayırt edici özelliği olan derin periodontal cepleri oluşturur.<sup>(2)</sup>

Periodontal hastalığın ortaya çıkabilmesi için belirli mikroorganizmaların bulunması gerekmektedir. Fakat periodontitis periodontal yıkıma yol açan basit bir bakteriyel enfeksiyon olarak kabul edilemez. Bunun ötesinde konağın bağışıklık sistemi, subgingival mikrobiyota ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimleri içeren karmaşık hastalıkların tamamını temsil eder.<sup>(36)</sup> Hem dental plakta hem de konağın genetiği ve bağışıklık sistemindeki sayısız varyasyonların bulunmasından dolayı bu dengesizliğin çözülmesi oldukça karmaşıktır.<sup>(2)</sup>

### **2.3. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması**

Günümüze kadar birçok farklı şekilde yapılan periodontal ve periimplant hastalık sınıflaması 2017 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi (AAP) tarafından güncellenmiş ve geliştirilmiştir. Sınıflandırma şemasının önemi, klinisyenlerin hastalığı doğru şekilde teşhis ve tedavi etmelerinin yanı sıra, bilim insanlarının etiyoloji, patogenez, doğal öykü ve hastalıkların tedavilerini araştırması için gereklidir. 2017 yılında yapılan sınıflamaya göre periodontal ve periimplant hastalıklar 4 gruba ayrılmıştır.<sup>(37)</sup> (Tablo 2.1.)

**Tablo 2.1.** 2017 Yılında Kabul Edilen Periodontal Hastalıkların ve Durumların Sınıflandırılması<sup>(37)</sup>

|   |   |
|---|---|
|    | <b>Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar ve Durumlar</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Periodontal Sağlık ve Gingival Sağlık</li><li>• Dental Biyofilm Kaynaklı Gingivitis</li><li>• Dental Biyofilm Kaynaklı Olmayan Gingival Hastalıklar</li></ul>   |
|    | <b>Periodontitis</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Nekrotizan Periodontal Hastalıklar</li><li>• Periodontitisler</li><li>• Sistemik Hastalıkların Bir Bulgusu Olarak Periodontitis</li></ul>  |
|    | <b>Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Periodontal Destek Dokularını Etkileyen Sistemik Hastalıklar veya Durumlar</li><li>• Periodontal Abseler ve Endodontik- Periodontal Lezyonlar</li><li>• Mukogingival Durumlar ve Deformiteler</li><li>• Travmatik Okluzal Kuvvetler</li><li>• Diş ve Protezle İlişkili Faktörler</li></ul> |
|  | <b>Peri-İmplant Hastalıklar ve Durumlar</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Peri-İmplant Sağlık</li><li>• Peri-İmplant Mukozitis</li><li>• Peri-İmplantitis</li><li>• Peri-İmplant Yumuşak ve Sert Doku Eksiklikleri</li></ul>  |

### 2.3.1. Periodontal Sağlık

Dünya sağlık örgütü (DSÖ)'nün tanımına göre sağlık, sadece hastalık veya sakatlığın olmaması değil, tam bir fiziksel, zihinsel ve sosyal refah durumudur. Bu tanımdan yola çıkarak periodontal sağlık, klinik değerlendirmede herhangi bir gingivitis, periodontitis veya diğer periodontal durumlarla ilgili hastalıkların bulunmaması veya geçmişte yaşanan bu durumların artık herhangi bir gingival enflamasyon belirtisi taşımayacak şekilde tedavi edilmesi demektir.<sup>(38)</sup>

Bu bilgiler ışığında gingival sağlık şu şekilde sınıflandırılabilir.<sup>(39)</sup>

1-Bozulmamış bir periodonsiyumda klinik dişeti sağlığı

2-Hasara uğramış periodonsiyumda klinik dişeti sağlığı

- a) Stabil durum sergileyen tedavi edilmiş periodontitis hastaları
- b) Periodontitis dışı durumlar (dişeti çekilmesi olan, kron boyu uzatma işlemi gerçekleştirilmiş)

Bu bilgiler ışığında periodontal sağlık durumu, bozulmamış periodonsiyum ve hasara uğramış periodonsiyum için; dişeti sağlığı, sondlama derinliğinin  $\leq 3$  mm olması ve sondlamada kanama yüzdesinin  $< \% 10$  olması olarak tanımlanır.<sup>(37, 40)</sup> Periodontal sond ile bu ölçümler yapılırken; periodontal sond boyutu, sondun giriş açısı ve uygulanan basınç gibi çeşitli faktörler dişeti iltihabının değerlendirilmesini etkileyebileceğinden dolayı sondlama kuvvetini standardize etmek zorunludur. Bunun için ise uygulanan kuvvet 0.25 N'yi aşmamalıdır.<sup>(41)</sup>

### 2.3.2. Gingivitis

Gingivitis plağa bağlı gingivitis ve plağa bağlı olmayan gingivitis olarak ikiye ayrılmaktadır.<sup>(39)</sup> Plağa bağlı gingivitis genellikle diş ve marjinal dişeti üzerinde biyofilm tabakasının birikimi ile başlar.<sup>(42)</sup> Dişetin kızarıklık, ödemli olması ve periodontal ataşman kaybının olmaması ile karakterize bölgeye özgü enflamatuar bir durumdur.<sup>(6, 7)</sup> Gingivitis genellikle ağrısızdır, nadiren spontan kanamaya neden olur ve sıklıkla hafif bir klinik tabloyla karakterizdir.<sup>(43)</sup> Gingivitis teşhisi sondlamada kanamaya bakılarak basit, objektif ve doğru bir şekilde tanımlanabilir ve derecelendirilebilir. Bozulmamış periodonsiyuma sahip bir hasta  $\geq \%10$  sondlamada kanama skoruna (SK) sahip ise gingivitis olarak kabul edilir.<sup>(44)</sup>

Plağa bağlı gingivitis ile periodontitisin farkı; gingivitiste dental biyofilm uzaklaştırıldığı zaman doku değişikliklerinin tamamen geri dönüşümlü olmasıdır. Fakat bu durum klinik olarak tedavi edilmediği takdirde periodontitisin öncüsü olarak kabul edilir.<sup>(44)</sup>

Plağa bağlı olmayan gingivitis daha az sıklıkla görülmesine rağmen hastalar için büyük bir öneme sahiptir. Bu lezyonlar, doğrudan plak kaynaklı olmasalar da plak varlığı durumu şiddetlendirebilir. Plağa bağlı olmayan gingivitis; genetik ve gelişimsel bozukluklar; bakteriyel, viral, fungal orjinli enfeksiyonlar; inflammatuar ve immün durumlar ve lezyonlar, reaktif durumlar, nezoplazmlar, endokrin ve metabolik bozukluklar olarak sınıflandırılabilir.<sup>(45)</sup>

### 2.3.3. Periodontitis

Periodontitis, disbiyotik plak biyofilmleriyle ilişkili ve periodontal dokuların aşamalı ilerleyici yıkımı ile karakterize kronik, multifaktöriyel, enflamatuar bir hastalıktır. Toplumlarda oldukça yaygın görülebilmektedir ve dünya nüfusunun oldukça büyük bir kısmını etkileyebilmektedir. Aynı zamanda erişkinlerde diş kaybının en büyük sebebidir.<sup>(3)</sup> Başlıca özellikleri arasında; klinik ataşman seviyesi kaybı (KAS) ile ortaya çıkan periodontal doku desteği kaybı, periodontal cep varlığı, dişeti kanaması sayılabilir. Radyografik olarak değerlendirildiğinde ise alveolar kemik kaybı söz konusudur.<sup>(46)</sup>

Bir hastanın periodontitis hastası olarak kabul edilmesi için komşu olmayan 2 veya daha fazla dişte tespit edilebilen klinik ataşman seviyesi kaybı olması veya iki veya daha fazla dişte bukkal/oral olarak  $>3\text{mm}$  cep ile beraber  $\geq 3\text{mm}$  klinik ataşman seviyesi kaybı olması gerekmektedir.

Aşağıdaki durumlarda da klinik ataşman seviyelerinde kayıplar gözlemlenebilir. Ancak bu kayıpların periodontitis kaynaklı olduğu söylenemez. Bu durumlar;

- Travma sonucu oluşan dişeti çekilmesi,
- Dişin servikal bölgesine uzanan kök çürüğü,
- İkinci molar dişin distalinde bulunan, malpoze veya travmatik şekilde çekimi yapılan üçüncü molar diş sebebiyle oluşan klinik ataşman seviyesi kaybı,
- Marjinal periodonsiyumdan drene olan bir endodontik lezyon varlığı,
- Vertikal kök kırığı bulunması.

Patofizyolojilerindeki farklılıklar esas alınarak üç farklı periodontitis çeşidi tanımlanmıştır:

1. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
2. Periodontitis
3. Sistemik Hastalıkların Belirtisi Olarak Periodontitis

Ayırıcı tanı yapılırken hastalık geçmişine ve nekrotizan periodontitisin spesifik semptomlarına ve konak yanıtını kesin olarak değiştiren yaygın olmayan sistemik bir hastalığın varlığına veya yokluğuna bakılır.<sup>(12)</sup>

2017 Periodontoloji Dünya Çalıştayında alınan karar ile birlikte periodontal hastalıkların sınıflandırılmasında evreleme ve derecelendirme sistemine geçilmiştir.

### **Evre (Stage)**

Evrelemenin amacı, periodontitisten etkilenmiş dokuların halihazırdaki ölçülebilir durumuna göre hastalığın şiddetine ve kapsamına karar vermektir. Bu sayede hastalığın karmaşıklığı kontrol altına alınabilir ve uzun vadede işlev ve estetik daha öngörülebilir sonuçlarla sağlanabilir.

#### **Evre 1 (Başlangıç Periodontitis)**

Evre I periodontitis, gingivitis ile periodontitis arasındaki sınırdır ve ataşman kaybının erken aşamalarını temsil eder. Bu hastalarda gingivitis ve biyofilm disbiyozunun devamlı olmasına yanıt olarak periodontitis gelişmiştir. En fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı 1-2 mm'dir. Radyografik muayenede ise alveoler kemik kaybı koronal üçlüde %15'ten azdır ve genellikle horizontal kayıp gözlenir. Maksimum sondlanan cep derinliği 4 mm veya daha azdır ve periodontitise bağlı diş kaybı görülmez.<sup>(12)</sup>

#### **Evre 2 (Orta Derecede Şiddetli Periodontitis)**

Periodontitisin diş destek dokularında oluşturduğu karakteristik hasarın görüldüğü evredir. En fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı 3-4 mm'dir. Radyografik muayenede, alveolar kemik kaybı koronal üçlüde %15-33 arasındadır ve çoğunlukla horizontal kayıp gözlenir. Maksimum sondlanan cep derinliği 5 mm veya daha azdır ve periodontitise bağlı diş kaybı görülmez.<sup>(12)</sup>

#### **Evre 3 (Şiddetli Periodontitis)**

Bu evrede epitelyal ataşmanda ciddi hasarlar mevcuttur ve tedavi edilmediği takdirde diş kayıpları görülebilir. En fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı 5 mm'den daha fazladır ve radyografik incelemede kökün ortasına veya apikal üçlüsüne kadar uzanan kemik kayıpları görülür. 4 veya daha az sayıda dişte periodontitis kaynaklı diş kaybı görülebilir. Maksimum sondlanan cep derinliği 6 mm veya daha fazladır. Vertikal kemik kaybı 3 mm veya daha fazladır ve Sınıf II veya III

furkasyon tutulumu mevcuttur. Orta seviyede kret defektleri bulunabilir. Diş kaybı olmasına rağmen çiğneme fonksiyonu korunmuştur.<sup>(12)</sup>

#### **Evre 4 (İleri Derece Şiddetli Periodontitis)**

Evre 4 periodontitis, periodontal destek dokularda ciddi hasara ve diş kaybına neden olabilir. Bu durum, çiğneme fonksiyonunun kaybına yol açabilir. En fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı 5 mm'den daha fazladır ve radyografik incelemede kökün orta veya apikal kısmına uzanan kemik kayıpları görülür. Evre 3 periodontitise ek olarak çiğneme disfonksiyonu bulunur ve dişlerde sınıf II veya daha fazla mobilite görülür. 5 veya daha fazla dişte periodontitis kaynaklı diş kaybı görülebilir. Kret defektleri ve dişlerde malpozisyonlar bulunabilir. Ağızda kalan diş sayısı 20'den azdır.<sup>(12)</sup>

**Tablo 2.2.** Periodontitis Evreleme(12)

| Periodontitis Evreleri        |   | Evre I Başlangıç Periodontitis   | Evre II Orta Derece Şiddetli Periodontitis                  | Evre III Şiddetli Periodontitis  | Evre IV İleri Derece Periodontitis   |
|-------------------------------|---|--|---|--|--|
| <b>Şiddet</b>                 | En Fazla Kayıp Olan Alandaki İnterdental Klinik Ataşman Kaybı | 1-2 mm   | 3-4 mm  | ≥5 mm  | ≥5 mm  |
|                               | Radyografik Kemik Kaybı                                       | Koronal Üçlü (<%15)  | Koronal Üçlü (%15-%33)                                      | Kökün Orta ve/veya Apikal Üçlüsüne Uzanan  | Kökün Orta ve/veya Apikal Üçlüsüne Uzanan  |
|                               | Diş Kaybı   | Periodontitise Bağlı Diş Kaybı Yoktur.   |   | Periodontal Kaynaklı Diş Kaybı ≤ 4 Diş   | Periodontal Kaynaklı Diş Kaybı ≥5  |
| <b>Tedavinin Karmaşıklığı</b> | Lokal   | Maksimum Sondlama Derinliği ≤4 mm<br>Horizontal Kemik Kaybı  | Maksimum Sondlama Derinliği ≤5 mm<br>Horizontal Kemik Kaybı | Evre II'ye Ek Olarak;<br>Sondlama Cep Derinliği ≥6 mm<br>Vertikal Kemik Kaybı ≥3 mm<br>Sınıf II veya III Furkasyon Problemi<br>Orta Seviyede Kret Defektleri | Evre III'e Ek Olarak;<br>Çiğneme Disfonksiyonu<br>Dişlerde Sekonder Oklüzal Travmaya Bağlı Sınıf II veya Daha Fazla Mobilite.<br>Kret Defektleri,<br>Dişlerde Malpozisyonlar<br>Kalan Diş Sayısı <20 |
| <b>Yaygınlık</b>              | Evrelemeye Tanımlayıcı Olarak                                 | Her Evre İçin Lokalize (Etkilenen Alanlar %30'dan Az Olduğunda), Generalize ve Molar-Keser Tutulumu Olarak Belirtilir. |   |  |  |

## **Derecelendirme (Grade)**

Derecelendirme; hastalığın ilerleme riskinin değerlendirilmesi, tedaviden beklenen kötü sonuçların değerlendirilmesi ve hastalığın veya tedavisinin hastanın genel ve sistemik sağlığını olumsuz etkileme riskinin öngörülebilmesi gibi hastalığın biyolojik özellikleri hakkında bilgi verir. Derecelendirme 3 grupta incelenir.<sup>(12)</sup>

### **Derece A (Yavaş İlerleme Oranı)**

5 yıllık radyografik kontrollerde kemik kaybı bulunmamaktadır. Kemik kaybı yüzdesi yaşa bölündüğü zaman çıkan sonuç 0.25'ten küçüktür. Biyofilm miktarına göre periodontal dokularda düşük seviyeli yıkım vardır. Yüksek Sensiviteli C Reaktif Protein (HsCRP) miktarı sistemik olarak 1 mg/L'den düşüktür. Sigara kullanımı ve diabete ilişkin bulgu bulunmamaktadır.

### **Derece B (Orta İlerleme Oranı)**

5 yıllık radyografik kontrollerde 2mm'den daha az miktarda kemik kaybı bulunmaktadır. Kemik kaybı yüzdesi yaşa bölündüğü zaman çıkan sonuç 0.25 ile 1 arasındadır. Periodontal dokularda biyofilm miktarına uyumlu miktarda yıkım bulunmaktadır. HsCRP miktarı sistemik olarak 1 ile 3mg/L arasındadır. Sigara kullanımı günde 10 adetten azdır ve Hemoglobin A1c (HbA1c) değeri 7'den düşüktür.

### **Derece C (Hızlı İlerleme Oranı)**

5 yıllık radyografik kontrollerde 2mm veya daha fazla miktarda kemik kaybı bulunmaktadır. Kemik kaybı yüzdesi yaşa bölündüğü zaman çıkan sonuç 1'den büyüktür. Periodontal dokularda biyofilm miktarına göre fazla miktarda yıkım bulunmaktadır. HsCRP miktarı sistemik olarak 3mg/L'den büyüktür. Sigara kullanımı günde 10 adetten fazladır ve HbA1c değeri 7 veya 7'den büyüktür.

**Tablo 2.3.** Periodontitis Derecelendirme(12)

| Periodontitis Derecesi                    |   | Derece A<br>Yavaş<br>İlerleme Oranı                              | Derece B<br>Orta İlerleme<br>Oranı  | Derece C<br>Hızlı İlerleme<br>Oranı  |   |
|---|---|--|---|--|---|
| Primer<br>Kriter                          | İlerlemenin<br>Direk<br>Kanıtları                       | Radyografik<br>Kemik<br>Kaybı veya<br>Klinik<br>Ataşman<br>Kaybı | 5 yıl boyunca<br>radyografik<br>kemik kaybı<br>yok                                  | 5 yıl boyunca<br>radyografik<br>kemik kaybı<br><2 mm                       | 5 yıl boyunca<br>radyografik<br>kemik kaybı<br>≥2 mm                          |
|   | İlerlemenin<br>İndirek<br>Kanıtları                     | % Kemik<br>Kaybı/Yaş   | <0,25   | 0,25-1   | >1  |
|   |   | Vaka<br>Fenotipi   | Biyofilm<br>Miktarına<br>Göre<br>Periodontal<br>Dokularda<br>Yıkım Düşük<br>Düzeyde | Biyofilm<br>Miktarı ve<br>Periodonsiyum<br>daki Kayıp<br>Miktarı<br>Uyumlu | Biyofilm<br>Miktarına<br>Göre<br>Periodontal<br>Yıkım<br>Beklenenden<br>Fazla |
| Derece<br>modifiye<br>ediciler            | Risk<br>Faktörleri                                      | Sigara   | -   | <10 sigara/gün   | ≥10<br>sigara/gün   |
|   |   | Diyabet  | -   | HbA1c<7  | HbA1≥7  |
| Periodontitisin<br>sistemik etki<br>riski | Enflamatuar<br>Yük                                      | Yüksek<br>Sensiviteli<br>CRP<br>(hsCRP)                          | <1 mg/L   | 1-3 mg/L   | 3> mg/L   |
| Biyomarkerlar                             | Klinik<br>Ataşman<br>Kaybı/Kemik<br>Kaybı<br>Markerları | Tükürük<br>DOS<br>Serum  | ?   | ?  | ?   |

#### 2.3.4. Periodontal Hastalıkların Patogenezi

Biyofilmler, karmaşık bakteri topluluklarıdır. Biyofilm içinde, ilkel homeostaz, ilkel bir dolaşım sistemi (atıkların giderilmesi ve beslenmenin sağlanması için) ve bir dereceye kadar metabolik işbirliği vardır.<sup>(47)</sup> Periodontal hastalığın ortaya çıkabilmesi için patojenik bir biyofilmin bulunması gerekli bir ön şarttır fakat tek başına hastalığa neden olabilmek için yeterli değildir. Hastalığın gelişmesi için biyofilm ve konak bağışıklık yanıtı arasında karmaşık etkileşimlerin olması gerekir ve bu etkileşim mekanizması periodontal doku hasarı riskinin %80 ini oluşturur.<sup>(48)</sup>

Dental biyofilm birikimine yanıt olarak gingival dokularda oluşan değişimler histopatolojik, radyografik ve morfolojik özelliklerine göre incelenmiştir ve başlangıç lezyonu, erken lezyon, yerleşmiş lezyon ve ilerlemiş lezyon olarak dört aşamada değerlendirilmiştir. Aşamalar arasında kesin sınırlar bulunmamakla birlikte; başlangıç

lezyonu ve erken lezyon gingivitisin erken dönem evreleriyle, yerleşmiş lezyon kronik gingivitisle, ilerlemiş lezyon ise periodontitisle paralellik göstermektedir.<sup>(4)</sup>

#### **2.3.4.1. Başlangıç Lezyonu**

Başlangıç lezyonu plak birikimini takiben 2-4 gün arasında oluşur. Subklinik lezyon olarak ta isimlendirilir.<sup>(49)</sup> Bu aşamada, klinik inflamasyon belirtisi yoktur, ancak dokulardaki değişiklikler histolojik olarak değerlendirilebilir. Kapillerde belirgin genişleme ve yükselmiş hidrostatik basınç gözlenir. Bu olayların tümü mikrovasküler yatakta geçirgenliğin artmasına sebep olur. Sonuç olarak, proteinler ve ardından sıvılar dokulara sızmaya başlar. Klinik olarak, plak biyofilminin ürettiği zararlı maddelerin seyreltilmesine ve yıkanmasına yardımcı olmak için dişeti oluğu sıvısı miktarında artış gözlenir.<sup>(50)</sup> Polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) sayısında artış ve periodontal hastalıktan etkilenmiş bölgelere göçü gözlenir.<sup>(51)</sup>

#### **2.3.4.2. Erken Lezyon**

Plakın birikimini takiben 4-7 gün sonra oluşur.<sup>(52)</sup> Bağ dokusunda nötrofil sayısının artması ve makrofajların, lenfositlerin, plazma hücrelerinin ve mast hücrelerinin ortaya çıkışı ile karakterizedir.<sup>(42, 53)</sup> Baskın infiltrate hücre tipleri nötrofiller ve T lenfositlerdir.<sup>(54)</sup> Kompleman proteinleri aktive edilir. Fibroblastlarda lökosit infiltrasyonuna yer sağlamak için dejenerasyon ve apoptoz gözlenir.<sup>(42, 53)</sup> Daha yüksek interlökin-1, interlökin-6 ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) seviyeleri ile sitokin üretimi artar.<sup>(49)</sup> İnterlökin-8, makrofaj enflamatuar protein ve RANTES gibi kemokinler üretilir ve dişeti dokularına ve dişeti oluğu sıvısına salınır.<sup>(55)</sup> Bu proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler, bağışıklık hücrelerinin hasar olan bölgeye daha fazla hareketine sebep olur.<sup>(56)</sup> Proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin aktivitelerini sınırlandırmak için makrofajlar ve T-lenfositler, interlökin-4 (IL-4), interlökin-10 (IL-10) ve interlökin-13 (IL-13) gibi "anti-enflamatuar" sitokinler üretmeye başlar.<sup>(57)</sup>

#### **2.3.4.3. Yerleşik Lezyon**

Plak birikimini takiben 2-3 hafta içinde gelişir. Akut inflamasyonun durdurulamadığı ve çözülemediği ve bu nedenle inflamasyonun kronik hale geldiği evredir. Makrofajlara ek olarak, plazma hücreleri ve T ve B lenfositleri baskın hale gelir.

Ayrıca IgG1 ve IgG3 B lenfosit alt sınıfları da mevcuttur.<sup>(58)</sup> Kollajen yıkımının artmasına karşın fibroblastlar ile kollajen sentezinin arttığı da gözlemlenmektedir.<sup>(59)</sup> Ancak henüz tespit edilebilir bir kemik kaybı yoktur.<sup>(30)</sup> Etken ortadan kaldırıldığında enflamasyon çözülür.<sup>(60)</sup>

#### 2.3.4.4. İlerlemiş Lezyon

İlerlemiş lezyon aynı zamanda ‘yıkıcı faz’ olarak da isimlendirilir, çünkü gingivitten periodontitise geçişi temsil eder.<sup>(27)</sup> İlerlemiş lezyonda, plazma hücreleri baskın hücre tipi olmaya devam eder. Birleşim epiteli cep epiteline dönüşmüştür. Plazma hücreleri ve makrofajlardan oluşan inflamatuvar hücre kompozisyonu daha da artmıştır. Kök yüzeyi ve kollajen arasındaki bağlantı kaybı ve alveolar kemikte rezorpsiyon gözlenir.<sup>(61)</sup>

T ve B hücrelerinin hakim olduğu yerleşik lezyondan ilerlemiş lezyona nasıl geçildiği tam olarak anlaşılamamıştır.<sup>(27)</sup> Dendritik hücrelerin aynı zamanda temel doku uyumluluk kompleksi sınıf II (MHC 2) moleküllerini ifade ettiği ve kostimülatör aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. B hücrelerinin antijenleri immünoglobülin reseptörleri yoluyla bağlama yeteneği, T lenfositlerin aktive edilmesinde önemli olabilir ve bu da, B hücrelerinde kostimülatör moleküllerin bulunduğu işaret eder. Kostimülasyon, antijen sunan hücrelerin, antijenin T hücre tarafından apoptozunu veya enerjisi önleyen bir proliferatif yanıt gerektirdiğini, T hücrelerine bildirdiği mekanizma olarak düşünülebilir.<sup>(62)</sup>

Periodontal sağlık durumunda; periodontal dokular, bağışıklık sisteminin çeşitli mekanizmaları aracılığıyla mikroorganizma varlığıyla baş edebilir.<sup>(63)</sup> Bununla birlikte Porphyromonas gingivalis, Aggregatibacter actinomycetemcomitans (A.a), Tannerella forsythia (T. forsythia) ve Treponema denticola (T. denticola)'yı içeren subgingival biyofilm varlığında konağın enfeksiyon kontrolü kaybolur ve bunun sonucunda doğuştan ve kazanılmış immün reaksiyonlar tetiklenir.<sup>(64)</sup>

Konağın savunmasında ilk olarak patojenlere karşı fiziksel bariyer görevi gören epitel hücreleri, kompleman sistem, PMNL'ler, dendritik hücreler ve doğal öldürücü hücreler bulunmaktadır. Tüm bunlar ‘doğal immunitiyi’ oluşturmaktadır. ‘Kazanılmış immunitiyi’ ise savunmaya daha sonradan katılan B ve T lenfositlerinden oluşmaktadır.<sup>(65, 66)</sup>

Mikroorganizmalar, birleşim epitelini geçebilir bağ dokusuna yerleşebilir, burada dişeti epitel hücrelerini ve fibroblastları ilk inflamatuvar tepkileri tetiklemek için uyarırlar.<sup>(67, 68)</sup> Bakterilerden salgılanan lipopolisakkarit (LPS) ve peptidoglikan (PGN) gibi moleküller konağın bağışıklık sistemiyle etkileşime girer. LPS ve PGN gibi bakteri kaynaklı patojen maddeler, patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP) olarak adlandırılır.<sup>(68)</sup> Bağışıklık sistemi hücrelerinin yüzeyinde PAMP'leri tespit eden pattern tanıyıcı reseptörler (PRR) bulunur. Bu reseptörler patojene erken yanıtın verilebilmesi için gerekli gen ekspresyon yollarını düzenlerler.<sup>(68)</sup> Toll-benzeri reseptörler (TLR) PRR ailesinin bir üyesidir. PAMP'yi tespit eder ve inflamatuvar yanıtı tetiklemek için gerekli mediyatörlerin salınması ve sentezini indükleyen nükleer faktör kapp B (NFκB) ve aktivatör protein 1 (AP-1) gibi proinflamatuvar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu sağlarlar.<sup>(69)</sup>

Lipopolisakkarit ve peptidoglikan gibi bakteri ürünleri PRR aracılığıyla merkezi sinyal düzenleyici olan inflamazomu aktive ederek proinflamatuvar sitokinler olan interlökin-1 beta, interlökin 33 (IL-33) ve interlökin-18 (IL-18)'in salgılanmasına neden olurlar. İnflamazom aktivasyonuna, hücrel apoptozun aktivasyonunda da önemli bir role sahip olan kaspaz-1 aktivitesi aracılık eder.<sup>(70, 71)</sup>

Proinflamatuvar sitokinlerin salgılanması polimorfonükleer lökositleri (nötrofiller) aktive eder. Histamin salınımı ve kompleman sistemi tarafından üretilen bileşenler olan C3a ve C5a'nın aktivasyonu, vazodilatasyona ve artmış vasküler geçirgenliğe yol açar. Daha sonra kapillerdeki nötrofiller vasküler endotelle temas eder, burada kılcal damarların endotel yüzeyine integrin reseptörleri aracılığıyla sıkı bir şekilde bağlanır ve diapedez yoluyla kan damarlarından dokulara doğru hareket eder.<sup>(72)</sup> Lökositlerin dolaşımından bağ dokusuna geçtikten sonra enflamasyon bölgesine ulaşmaları kemotaksis ile gerçekleşir. Nötrofiller, kendilerine spesifik olarak üretilen kemotaktik maddelere yanıt olarak enflamasyon bölgesine gider. Nötrofiller için spesifik kemotaktik madde IL-8 dir.<sup>(73)</sup>

Nötrofillerin bakteri fagositozu ve bakteri öldürme gibi yetenekleri vardır. PMNL'ler tarafından bakteri öldürme, hem hücre içi (hücre içindeki zara bağlı yapılar sayesinde bakteri fagositozu) hem de hücre dışı mekanizmaları (PMNL enzimleri ve hücre dışındaki oksijen radikallerinin salınmasıyla) içerir.<sup>(47)</sup> Ölü ve ölmekte olan nötrofiller

makrofajlar tarafından fagosite edilir ve bu da Dönüştürücü Büyüme Faktörü-  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ile etkisiz hale getirilebilir.<sup>(74)</sup>

Nötrofiller yalnızca lezyonun başlamasında görevli değildir. Nötrofillerin proinflatuar, antiinflatuar veya immün düzenleyici özelliklere sahip kemokinler ve sitokinler için de novo biyosentetik kapasiteleri de vardır. Kemokinlerin salınımı yoluyla, nötrofiller, interlökin-17 üreten CD4-pozitif T-yardımcı 17 hücrelerinin enfeksiyon veya enflamasyon bölgelerine alınmasını indükleyebilir. Ayrıca aktive olmuş nötrofillerin ek olarak, önemli bir osteoklastojenik sitokin olan zara bağlı RANKL'ı eksprese ettiği ve böylece osteoklastik kemik rezorpsiyonunu indükleyebildiği gösterilmiştir.<sup>(4, 75, 76)</sup>

Makrofajlar, interlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktörü alfa (TNF- $\alpha$ ), Matris metalloproteinaz (MMP) ve prostaglandin E2 (PGE2) gibi dokular için önemli rol oynayan proinflatuar ve potansiyel olarak yıkıcı moleküllerin önemli bir kaynağıdır ve kronik periodontitisli hastaların dişeti dokusunda ve dişeti oluşu sıvısında yüksek konsantrasyonlarda bulunur.<sup>(77)</sup> Makrofajlar M1 (klasik) veya M2 (alternatif) aktivasyona uğrayabilir.<sup>(78)</sup> M1 makrofajlar, mikrobiyal ajanlar veya tip 1 sitokinler (örn. İnterferon-gama) tarafından indüklenir. M2 makrofajlar ise tip 2 sitokinler (interlökin-4 ve interlökin-13) dahil olmak üzere çeşitli agonistler tarafından indüklenebilir ve yüksek seviyelerde interlökin-10 ve dönüştürücü büyüme faktörü-beta 1 (TGF- $\beta$ 1) salgılayabilir.<sup>(4)</sup>

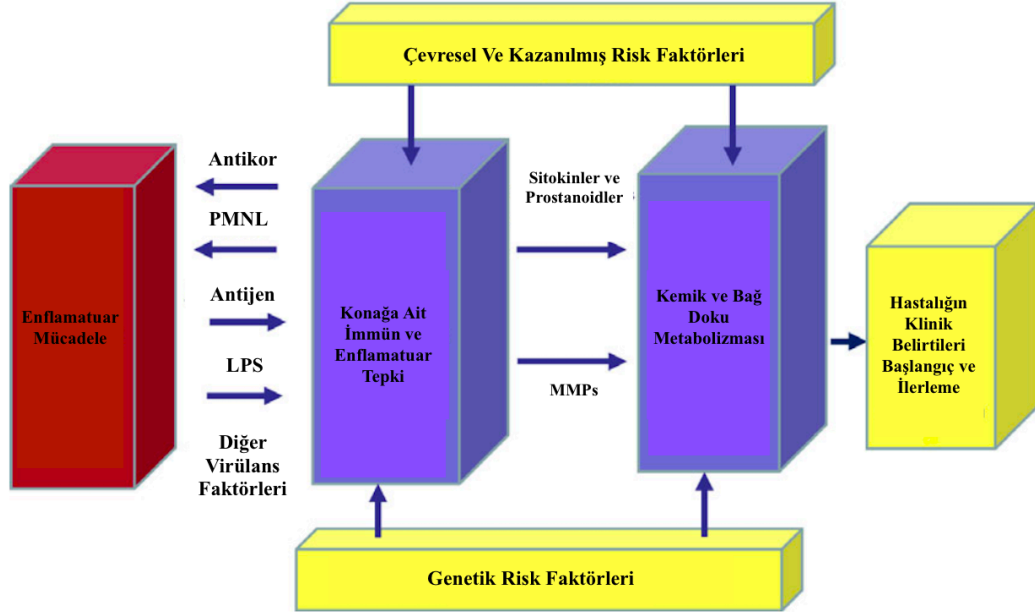
Doğal immün yanıt, antijenik uyarıyı yok etme konusunda başarısız olduğu zaman kazanılmış immün yanıt devreye girer. Kazanılmış immün yanıtta, T hücreleri ve B hücreleri, antijen sunan hücrelerle etkileşerek aktive olur ve çoğalarak enflamasyon bölgesine göç ederler.<sup>(79)</sup> Gingivitiste baskın miktarda bulunan antijen sunan hücreler CD14+ ve CD18+ dendritik hücreleridir. Periodontitiste ise baskın miktarda bulunan antijen sunan hücreler CD19+ ve CD83+ B lenfositleridir.<sup>(80)</sup> Kazanılmış immün yanıtın aktive olmasında dendritik hücreler gibi doğal immün yanıtta görev yapan hücreler de rol oynar. PRR ailesinin bir üyesi olan TLR patojen ile etkileştikten sonra, çeşitli sinyal mekanizmaları sayesinde dendritik hücreleri uyarır. Bu uyarı sayesinde T hücrelerinin üretilmesi ve farklılaşması için gerekli olan sitokin, kemokin ve çeşitli uyarıcı moleküllerin oluşması sağlanır.<sup>(81)</sup>

T-lenfositler, CD4 veya CD8 moleküllerinin hücre yüzeyi ekspresyonuna göre alt gruplara ayrılır. CD4 + T hücreleri (T yardımcı hücreler) başlangıçta sitokin üretim modellerine göre T yardımcı 1 (Th1) ve T yardımcı 2 (Th2) olarak iki alt gruba ayrılır.<sup>(82)</sup> Th 1 hücreleri interlökin-2 ve interferon gama salgımlarken, Th 2 hücreleri interlökin 4, 5, 6, 10 ve 13 üretir. Her iki hücre tipi de interlökin-3, tümör nekroz faktörü alfa ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör üretir. Th1 daha çok hücreyel immun yanıtla ilişkili olup proinflamatuvar etkiler gösterirken Th2 daha çok hümorel immun yanıtla ilişkilidir ve antiinflamatuvar etkiler gösterir. T yardımcı hücresi alt grupları B hücrelerinin davranışında da rol oynar. Örneğin, Th 1 hücreleri IgG2'nin B hücresi sekresyonunu yönlendirirken, Th 2 hücreleri IgG1 sekresyonunu artırır.<sup>(62)</sup>

B hücreleri, antijen sunan hücrelerle etkileşime girerek aktive olur ve iltihap bölgesine göç ederler. B hücreleri ve plazma hücreleri, bakteriyel adhezyonu önleme, bakteri kaynaklı toksinleri inaktive etme ve polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından fagositoz için opsonin olarak davranmak gibi çeşitli yöntemler kullanarak konağı koruyan immünoglobulinleri salgımlarlar.<sup>(83)</sup>

T ve B lenfositleri, periodontal enflamasyon sırasında nükleer faktör  $\kappa$ B ligand reseptörür aktivatörünün (RANKL) ana hücreyel kaynakları olarak gösterildiğinden dolayı kazanılmış immun yanıtın periodontitiste kemik kaybı üzerinde büyük etkisi olduğu düşünülebilir.<sup>(84)</sup> Periodontitis hastalarının hastalıklı dişeti dokularındaki T hücrelerinin yaklaşık % 50'si ve B hücrelerinin yaklaşık% 90'ı RANKL eksprese ederler.<sup>(85)</sup>

Özetlemek gerekirse, periodontal hastalığın meydana gelebilmesi için subgingival plak tek başına yeterli değildir. Plak birikimi ve konağın immun cevabı arasındaki etkileşimler sayesinde periodontal hastalık oluşur. Konağın immün cevabı, periodontal dokularda yüksek konsantrasyonlarda enflamatuvar sitokinler, prostanoidler (örn., PGE<sub>2</sub>) ve enzimlerin (örn., matrix metalloproteinazlar) aşırı üretimine sebep olur. Bunun sonucu olarak ta periodontal dokularda yıkım meydana gelir.<sup>(86)</sup>



Şekil 2.2. Periodontitis Patogenezi(72)

#### 2.4. Sitokinler

Sitokinler, bağışıklık tepkilerini düzenleyen, belirleyen ve aynı zamanda bağışıklık hücrelerinin trafiğini ve hücrel düzenini kontrol eden düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir.<sup>(13, 87)</sup> Sitokinler, homotipik ve heterotipik hücre tipleri arasındaki karmaşık bir iletişim ağının sürdürülmesinden sorumludur. Bu nedenle sitokinler, çoğalma, gelişme, farklılaşma, homeostaz, rejenerasyon, onarım ve enfeksiyon dahil olmak üzere çok sayıda biyolojik aktivitede önemli bir rol oynarlar.<sup>(88)</sup> Sitokinler, temelde, doğal ve kazanılmış immünitede rol oynayan hücreler tarafından üretilebilirken, fibroblastlar, endotelial hücreler ve stromal hücreler gibi pek çok hücre tarafından da üretilebilir. Hem salgılandıkları hücrelere (otokrin etki), hem yakınındaki hücrelere (parakrin etki) hem de dolaşıma katılarak uzaktaki hücrelere (endokrin etki) etki edebilir. Sitokinler son derece güçlüdür ve genellikle pikomolar konsantrasyonlarda etki eder. Her sitokin veya sitokin grubuna özgü yüksek afiniteli hücre yüzey reseptörleri ile etkileşirler. Bir tür sitokin birden fazla hücreye etki etmesine ‘pleiotropik etki’ denir.<sup>(89-91)</sup>

Bazı sitokinler enflamatuvar yanıtı artırır ve bunlar proinflamatuvar sitokinler olarak isimlendirilir. Bu sitokinlerin aktivitelerini baskılayan sitokinler ise antiinflamatuvar sitokinler olarak isimlendirilir. Proinflamatuvar sitokinlere örnek olarak 1L-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ,

IL-6, IL-8 verilebilir. Antiinflamatuvar sitokinlere örnek olarak ise IL-4, IL-10, IL-13 verilebilir.<sup>(88)</sup>

**Tablo 2.4.** Antiinflamatuvar aktivite gösteren bazı sitokinler ve hücre kaynakları<sup>(57)</sup>

| Sitokinler   | Hücre kaynakları   |
|--------------|--|
| IL-1ra       | Monosit, makrofaj, dendritik hücreler                            |
| IL-4         | T hücreleri (Th2), mast hücreleri, B hücreleri, stromal hücreler |
| IL-6         | T hücreleri, B hücreleri, monositler, PMNL                       |
| IL-10        | Monositler, makrofajlar, T hücreleri (Th2), B hücreleri          |
| IL-11        | Stromal hücreler, fibroblastlar                                  |
| IL-13        | T hücreleri (Th2)  |
| TGF- $\beta$ | Birçok hücre tarafından eksprese edilir                          |

**Tablo 2.5.** Proinflamatuvar aktivite gösteren bazı sitokinler ve hücre kaynakları<sup>(92)</sup>

| Sitokinler    | Hücre kaynakları  |
|---------------|---|
| TNF- $\alpha$ | Monositler, nötrofiller, dendritik hücreler               |
| IL-1 $\alpha$ | Nötrofiller, T hücreleri                                  |
| IL-1 $\beta$  | Nötrofiller, trombositler, T hücreleri                    |
| IL-6          | Nötrofiller, B hücreleri                                  |
| IL-12 $\beta$ | T hücreleri   |
| CCL2          | Monositler, dendritik hücreler, T hücreleri               |
| CCL3          | Nötrofiller, eozinofiller, bazofiller                     |
| CCL4          | Monositler, dendritik hücreler, NK hücreleri, T hücreleri |
| CCL5          | Eozinofiller, bazofiller, T hücreleri                     |
| IL-8          | Nötrofiller, makrofajlar, mast hücreleri                  |

### 2.4.1. İnterlökin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

IL-1 sitokini ilk olarak 40 sene önce keşfedilmiş ve adlandırılmıştır. Gen teknolojileri kullanılarak bulunan 11 molekül ve 10 ilişkili reseptörden oluşan karmaşık bir sitokin ailesinin parçasıdır. IL-1 aile üyeleri arasında IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-33, IL-36, IL-37 ve IL-38 gibi sitokinler yer alır. IL-1 sitokin ailesi hem doğuştan gelen immün yanıt hem de kazanılmış immün yanıtta görev almaktadır. Ayrıca inflamasyon, otoimmünite, kardiyovasküler bozukluklar ve kanser gibi olaylarla ilişkili oldukları kanıtlanmıştır.<sup>(93, 94)</sup>

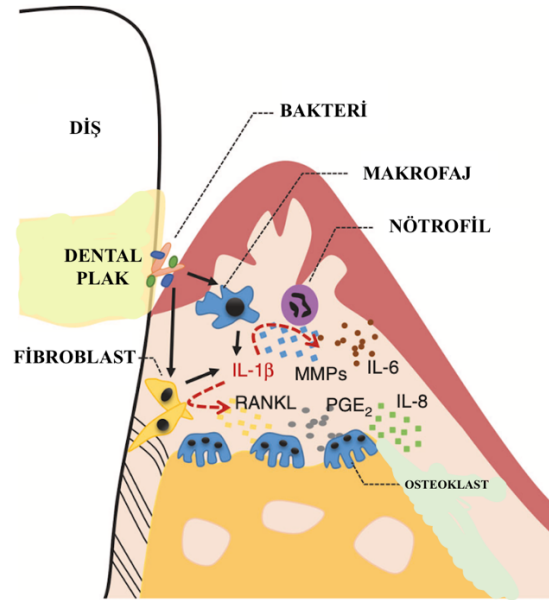
IL-1 in temel formlarından birisi olan IL-1 $\beta$  vücutta çok çeşitli biyolojik aktivitelere katılır.<sup>(16)</sup> Esas olarak makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından eksprese edilir. Bununla birlikte, gingival fibroblastlar, periodontal ligament hücreleri ve osteoblastlar da IL-1 $\beta$  salgılayabilir.<sup>(17)</sup> Yapılan bir çalışmada, IL-1 $\beta$ 'nin nosiseptif DRG nöronları tarafından da eksprese edildiği bildirilmiştir.<sup>(95)</sup>

Sitokin ilk olarak bir proprotein olarak üretilir. Aktif olmayan öncü formu olan pro-IL-1 $\beta$ , patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMP) veya hasar ilişkili moleküler paternlere (DAMP) yanıt olarak ortaya çıkar. İnaktif formda olan pro-IL-1 $\beta$  IL-1 dönüştürücü enzim olarak ta adlandırılan kaspaz-1 tarafından aktif formu olan IL-1 $\beta$ 'ya dönüştürülür.<sup>(96, 97)</sup>

İnflamatuar bölgedeki IL-1 $\beta$ , artan lokal kan akışı, lökosit alımı ve nötrofil infiltrasyonundan sorumludur. Ayrıca IL-1 $\beta$ , hücre dışı matris bozulmasına katkıda bulunan ve dolayısıyla kemik ve doku yıkımına yol açan kollajenolitik enzimlerin, matris metaloproteinazların (MMP'ler) ekspresyonunu artırır.<sup>(98)</sup> IL-1 $\beta$ , osteoblastlar, osteoklastlar, nötrofiller ve sementoblastlar dahil olmak üzere periodontal inflamasyonda yer alan çeşitli hücre tiplerinde MMP-9 seviyelerini artırır.<sup>(99)</sup>

RANKL ve osteoprotegerin (OPG) sistemi osteoklastogenezi düzenler. Artmış RANKL ve azalmış OPG, periodontitisin bir özelliğidir. IL-1 $\beta$ , RANKL seviyelerini artırır ve böylece osteoklastogenezi uyarır. Ayrıca IL-1 $\beta$ , fibroblast hücrelerinde prostoglandin E2 (PGE2) sentezini artırır. PGE2'nin RANKL ekspresyonunu uyarmasıyla dolaylı yoldan da osteoklastogenezi uyarır.<sup>(100-102)</sup>

IL-1 $\beta$ , periodontal hastalığı olan bireylerin dişeti dokusunda spesifik olarak ölçülen ilk sitokindir. Ayrıca periodontal hastalıkta tükürük biyobelirteçleri arasında klinik çalışmalarda en kapsamlı çalışılan sitokindir. Yapılan klinik çalışmalar, sitokinin önemi hakkında güçlü kanıtlar sağlar. IL-1 $\beta$ 'nın biyolojik etkileri, periodontitiste yükselen doku konsantrasyonuna bağlıdır. Yapılan klinik çalışmalarda sağlıklı kontrollere kıyasla periodontitisli hastaların tükürük ve dişeti oluğu sıvılarında (DOS) artmış IL-1 $\beta$  seviyeleri sıklıkla saptanmıştır.<sup>(18, 103, 104)</sup> Ayrıca tükürük IL-1 $\beta$  seviyelerinin periodontal tedaviden sonra azaldığını gösteren bağımsız çalışmalar da mevcuttur.<sup>(105)</sup> Periodontitis hastalarında serumda yüksek seviyelere ulaşan IL-1 $\beta$  sistemik etki de gösterir. Bu sonuç, IL-1 $\beta$ 'nın periodontitis ile kardiyovasküler hastalıklar gibi sistemik hastalıklar arasında bir bağlantı olabileceğini gösterir.<sup>(106)</sup>



Şekil 2.3. İnterlökin IL-1 $\beta$ 'nın periodontisteki rolü<sup>(107)</sup>

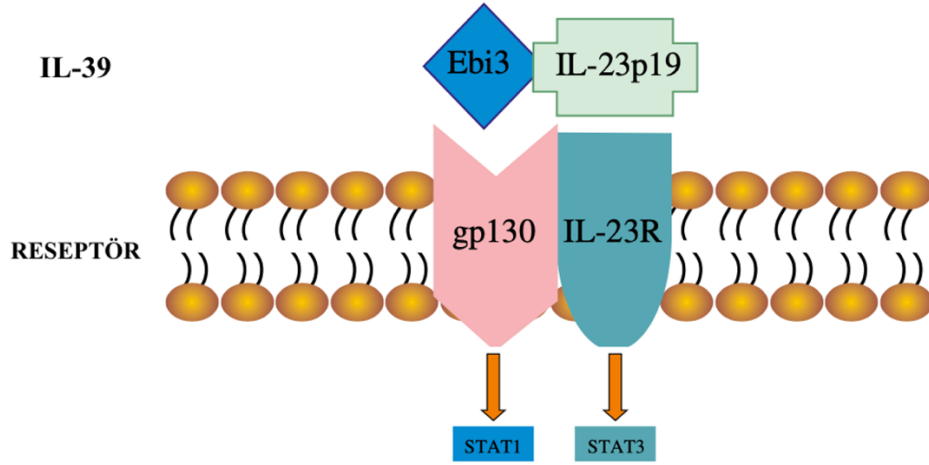
#### 2.4.2. İnterlökin-39 (IL-39)

İnterlökin 12 (IL-12) ailesine bağlı olan sitokinler kovalent bağlı iki alt birim olan,  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerinden oluşan heterodimer glikoproteinlerdir.  $\alpha$  alt birimi, IL-23p19, IL-27p28 ve IL-12p35'ten oluşur.  $\beta$  alt birimi ise IL-12p40 ve EBI3'ü içerir.<sup>(108)</sup> Bu iki alt birime ait moleküllerin birbirleriyle kovalent bağ yapmasıyla IL-12 (IL-12p35 /IL-12p40), IL-23 (IL-23p19 /IL-12p40), IL-27 (IL-27p28 /Ebi3), IL-35 (IL-12p35 /Ebi3) IL-Y (IL-27p28/IL-12p40) ve IL-39 (IL-23p19/EBI3) oluşur.<sup>(109, 110)</sup>

Bu sitokin ailesi, anti-inflamatuar ve proinflamatuar yanıtlar dahil olmak üzere immün yanıtta birçok alanda görev alır. IL-12, IL-23 ve IL-27, esas olarak dendritik hücreler ve makrofajlar gibi antijen sunan hücreler tarafından üretilir. IL-12, patojenler ve malign tümörlere karşı interferon- $\gamma$  üretimini indükleyerek Th1 tarafından yürütülen bağışıklık mekanizmasında kritik rol oynar. IL-23, IL-17 üretimini indükler ve enflamatuar ve otoimmün hastalıklara neden olan patojenik Th17 hücrelerini korumak için gereklidir. IL-27'nin ilk olarak Th1 farklılaşmasında kritik bir rol oynadığı bildirilmiştir; ancak sonraki çalışmalar, IL-27'nin, T hücre proliferasyonu, farklılaşması, sitokin üretimi ve efektör fonksiyonlarında daha geniş uyarıcı ve inhibe edici rollere sahip olduğunu ortaya koymuştur. IL-35 ise P3 + Treg hücreleri ve aktive edilmiş B hücreleri tarafından üretilir ve immünsüpresif işlevlere sahiptir.<sup>(111-113)</sup>

IL-39 bu ailenin en yeni üyesidir. Wang ve arkadaşları IL-12'nin  $\alpha$  alt biriminden IL-23p19'un ve  $\beta$  alt biriminden EB13'ün, yeni bir heterodimer olan IL-23p19 / EB13'ü oluşturduğunu keşfetmişlerdir ve IL-39 olarak adlandırmışlardır.<sup>(20)</sup> Sitokin reseptörleri; IL-23, IL-27 ve IL-35'te de reseptör olarak görev yapan IL-23R, ve gp130'dur.<sup>(22)</sup>

IL-39'un inflammatuar tepkilere aracılık etmesi STAT1 / STAT3 sinyal moleküllerini IL-23R/gp130 reseptörüne bağlayarak aktive etmesiyle olur. Proinflamatuar sitokinler, endotel hücrelerinde IL-23p19 oluşumunu destekler. Hücreler arası IL-23p19, lökositlerin bağlanması ve transendotelial geçişini artıran hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü-1'in (VCAM-1) hücre yüzey ekspresyonunu artırır.<sup>(21)</sup> IL-39'un ayrıca nötrofillerin farklılaşmasını ve/veya genişlemesini indüklediği de gösterilmiştir.<sup>(114)</sup> Nötrofillerin, SLE'nin başlaması, ilerlemesi ve hastalığa sahip bireylerde organ hasarına sebep olduğu literatürde bildirilmiştir.<sup>(115, 116)</sup>



Şekil 2.4. IL-39 sinyal yolu<sup>(117)</sup>

Yapılan çalışmalar, IL-23p19 ve EBI3'ün LPS ile uyarılan B hücreleri tarafından salgılandığını ve bunun LPS ile uyarım süresi ile pozitif bir korelasyona sahip olduğunu doğrulamıştır. Ayrıca Ebstein-Barr virüsüyle enfekte B lenfositlerde EBI3 ekspresyonunun çok yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir. Dendritik hücreler ve makrofajlar gibi bağışıklık hücreleri IL-23p19 ve Ebi3 mRNA eksprese ederler. Bu ekspresyon miktarı, IL-4 varlığında yükselir. B hücrelerinde olanın aksine LPS ise bu hücrelerden IL-23p19 ve Ebi3 mRNA ekspresyonunu inhibe eder.<sup>(22, 118)</sup>

IL-39'un hasarlı keratinositler tarafından salgılandığı ve yara iyileşmesine katkıda bulunduğu da bildirilmiştir. TLR3 hasarlı hücrelerde onarım sürecini başlatmada büyük öneme sahiptir. TLR3 aracılı keratinosit aktivasyonunun, IL-23p19/Ebi3 heterodimer oluşumunu tetiklediği ve muhtemelen enflamatuvar tepkileri azaltarak yara iyileşmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir.<sup>(119, 120)</sup>

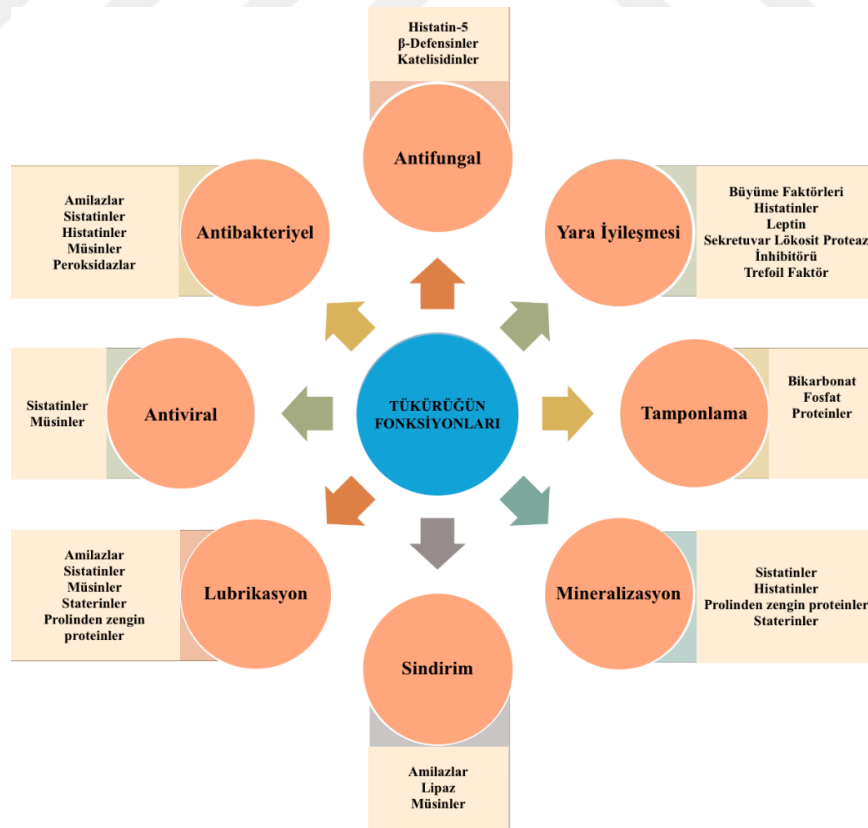
*P. gingivalis*, gram negatif bir oral anaerobdur ve periodontal hastalıklarda ana etiyolojik faktör olarak kabul edilir.<sup>(121)</sup> Oral epitel hücrelerinin, *P. gingivalis*'e yanıt olarak IL-36 $\gamma$  üretimini arttırdığı gösterilmiştir.<sup>(122)</sup> IL-36 $\gamma$ 'nin, oral epitel hücrelerinden IL-23p19 ve EBI3'ün üretimini uyardığı gösterilmiştir. Ayrıca IL-36 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  nın da IL-23p19 ve EBI3'ü seçici olarak üretmek için oral epitel hücrelerini uyardığı, *P. Gingivalis*in ise uyarmadığı gösterilmiştir.<sup>(123)</sup>

## 2.5. Tükürük

Tükürük %99 oranında su ve %1 oranında amilaz, mukopolisakarit, müsin, lizozim gibi organik moleküller ve Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup> ve tiyosiyanat iyonu gibi inorganik moleküllerden oluşan biyolojik bir sıvıdır. Değişken miktarlarda kan, serum, serum ürünleri, dişeti oluğu sıvısı (DOS), epitel ve bağışıklık hücreleri, mikroorganizmalar, bronşiyal ürünler ve diğer yabancı maddeler de tükürükte bulunur. Renksiz, kokusuzdur ve 6.6-7.1 arası pH'a sahiptir.<sup>(124, 125)</sup>

Tükürük genel olarak üç çift ana tükürük bezi (parotis, sublingual, submandibular) tarafından, ikincil olarak ise ağız mukozal yüzeylerinin altında bulunan yüzlerce küçük tükürük bezi tarafından salgılanır. Tükürük bezi salgıları, yerel olarak üretilen proteinlerin yanı sıra sistemik dolaşıma ait diğer molekülleri de içerir.<sup>(126)</sup>

Tükürüğün sindirim, lubrikasyon ve ağız sağlığının korunması başta olmak üzere birçok işlevi bulunmaktadır.<sup>(127-129)</sup> Ayrıca tükürük, ağız boşluğundaki oksidatif hasarları kontrol ederek ve / veya modüle ederek oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur.<sup>(130)</sup> Tükürüğün fonksiyonları şekil 2.5.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Tükürüğün Fonksiyonları<sup>(131)</sup>

Serum gibi tükürükte de hormonlar, antikorlar, büyüme faktörleri, enzimler, mikroorganizmalar ve bunların ürünleri bulunur. Bu bileşenlerin birçoğu pasif difüzyon, aktif taşıma veya hücre dışı ultra filtrasyon yoluyla kandan tükürüğe girer. Bu nedenle tükürük birçok durumda vücudun fizyolojik fonksiyonunun bir yansıması olarak görülebilir.<sup>(132, 133)</sup>

IL-1 $\beta$ , periodontitis hastalarında kullanılan tükürük biyobelirteçleri arasında en detaylı çalışılan ve en çok kullanılan sitokinler arasındadır.<sup>(134)</sup> Tükürük IL-1 $\beta$  seviyelerinin sağlıklı bireylerle, periodontal hastalığa sahip bireyler arasında kıyaslandığı çalışmalarda, periodontal hastalığa sahip bireylerde daha yüksek IL-1 $\beta$  seviyeleri rapor edilmiştir. Çalışmalar, tükürük IL-1 $\beta$  ile periodontal hastalığın ilerlemesi arasında doza bağımlı şekilde güçlü bir ilişkili ortaya koymuştur.<sup>(26, 135)</sup>

Günümüzde periodontal hastalıkların teşhisi, klinik periodontal parametrelerin değerlendirilmesi ve radyografik incelemeler ile yapılmaktadır. Bu yöntemlerin dezavantajı, sadece uygulandığı zaman dilimi hakkında bilgi vermesidir. Bu sebeplerle birlikte, tüm ağızdaki periodontal ceplerden toplanabilecek toplam dişeti oluğu sıvısı miktarının büyük bir bölümünü içerdiğinden ve diğer tanı yöntemlerine kıyasla daha kolay şekilde toplanabilmesinden dolayı, hastalık aktivitesinin belirlenmesi ve risk taşıyan bireylerin önceden tespit edilmesi amacıyla tükürük örnekleri teşhis seçeneği olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.<sup>(24-26, 136)</sup>

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na çeşitli periodontal şikayetler ile başvuran 33 periodontal olarak sağlıklı, 33 gingivitis ve 33 periodontitis olmak üzere toplam 99 gönüllünün katılımıyla tamamlanmıştır.

#### 3.1. Etik Kurul Onayı ve Resmi İzinler

Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 08.01.2020 tarih ve KAEK-56 numaralı kararı ile etik açıdan onaylanmıştır (Ek 1). Çalışmaya katılan hastalara çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi verildikten sonra 'Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu' imzalatılmıştır (Ek 2).

#### 3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

Aşağıdaki kriterlere sahip olan bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir

- Son 6 ay içerisinde herhangi bir sebeple periodontal tedavi görmüş olanlar,
- Son 6 ay içerisinde herhangi bir sebeple antibiyotik tedavisi görmüş olanlar,
- Periodontal sağlığı etkileyen herhangi bir sistemik hastalığa sahip olanlar (Kalp hastalıkları, diabet, kan hastalıkları, vb.),
- İmmun sistemi baskılayan ilaç kullananlar,
- Kemoterapi veya radyoterapi alan hastalar,
- Bulaşıcı hastalığa sahip olanlar (Tüberküloz, aids, hepatit vb.),
- Hamile kadınlar,
- Sigara kullananlar,
- Araştırmaya katılmak istemeyenler.

### 3.3. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Aşağıdaki kriterlere sahip olan bireyler çalışmaya dahil edilmiştir:

1-Periodontal cep varlığının gözlemlenmemesi (3 mm veya daha az cep), radyografide vertikal ve horizontal kemik yıkımı olmaması, tüm ağız sondlamada kanama skorunun yüzde 10'un altında olması (Sağlıklı grup),

2-Periodontal cep varlığının gözlenmemesi (3mm veya daha az cep), radyografide vertikal ve horizontal kemik yıkımı olmaması, tüm ağız sondlama kanama skorunun yüzde 10'dan fazla olması. (Gingivitis grubu)

3-Periodontitis Evre 2 (3-4 mm ataşman kaybı ve 5 mm veya daha az sondlama derinliği, periodontitis kaynaklı diş kaybı bulunmayan hastalar) ve Periodontitis Evre 3 (5 mm veya daha fazla ataşman kaybı bulunan, sondlama derinliği 6 mm veya daha az olan, periodontitis kaynaklı diş kaybı 4 veya daha az olan hastalar) hastalar. (Periodontitis grubu)

### 3.4. Klinik Değerlendirmeler

Çalışmaya dahil edilmesi düşünülen hastalardan ilk olarak dental ve sistemik anamnez alınmıştır. Yukarıda belirtilen kriterleri karşılayan ve çalışmaya katılmaya gönüllü olan hastalarda, periodontal durumlarını saptayabilmek amacıyla ağızda bulunan dişlerin tamamında, Plak İndeksi (Pİ)<sup>(137)</sup>, Gingival İndeks (Gİ)<sup>(138)</sup>, Sondlanabilir Cep Derinliği (SCD), Klinik Ataşman Seviyesi (KAS), Sondlamada Kanama (SK) parametrelerine bakılmıştır. Ölçümler milimetrik olarak kalibre edilmiş Williams periodontal sondu (Hu Friedy, Chicago, IL, USA) kullanılarak her bir dişin 6 yüzünden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midpalatinal, distopalatinal) aynı klinisyen (MCK) tarafından yapılmıştır.



Şekil 3.1. Williams Periodontal Sondu

### 3.4.1. Plak İndeksi (Pİ)

Ağızdaki mevcut plak birikiminin değerlendirilmesi amacıyla Silness-Löe Pİ skorları kullanılmıştır.<sup>(137)</sup>

Silness-Löe plak indeks skorlarına göre:

- 0: Diş yüzeyinde herhangi bir bakteri plağı yok
- 1: Serbest dişeti kenarına ve komşu diş yüzeyine yapışan film halinde plak vardır. Plak, sondun dişeti kenarına yakın bölgelerde gezdirilmesiyle görülebilir.
- 2: Dişeti cebi ya da diş ve dişeti kenarlarında çıplak gözle gözlenebilen orta düzeyde yumuşak plak vardır.
- 3: Dişeti cebi ya da komşu dişeti kenarında yoğun miktarda plak birikimi vardır.

### 3.4.2. Gingival İndeks (Gİ)

Dişetlerindeki gingival inflamasyon düzeyinin olarak belirlenmesi amacıyla Löe-Silness Gİ skorları kullanılmıştır.<sup>(138)</sup> Williams periodontal sondu dişlerin uzun aksına paralel olacak şekilde, dişeti kenarında gezdirilerek 0-3 arasında indeks değerleri verilmiştir.

0. Sağlıklı dişeti.
1. Dişetlerinde hafif seviyede inflamasyon, renk değişikliği ve ödem mevcuttur. Sondlamada kanama görülmez.

2. Dişetlerinde orta seviyede inflamasyon mevcuttur. Dişetleri parlak, kızarıklık ve ödemlidir. Sondlamada kanama görülür.

3. Dişetlerinde şiddetli seviyede inflamasyon mevcuttur. Belirgin şekilde kızarıklık ve ödem mevcuttur. Spontan kanama ve ülserasyonlar görülür.

#### **3.4.3. Sondlanabilir Cep Derinliği (SCD)**

Sondlanabilir cep derinliği Williams sondu kullanılarak, dişin uzun aksına paralel olacak şekilde tutulup, serbest dişeti kenarından cep tabanında direnç hissedilen noktaya kadar ilgili dişin 6 yüzeyinden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midplatinal ve distopalatinal) yapılmıştır. Milimetrik olarak hesaplanmıştır.

#### **3.4.4. Klinik Ataşman Seviyesi (KAS)**

Klinik ataşman seviyesi ölçümü dişin 6 bölgesinden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midplatinal, distopalatinal) Williams sondu kullanılarak yapılmıştır. Ölçüm için mine-sement sınırından cep tabanına olan mesafe milimetrik olarak ölçülmüştür.

#### **3.4.5. Sondlamada Kanama (SK)**

Sondlanabilir cep derinliği tespit edilirken yaklaşık 10-15 saniye (sn) sonrasında gingival sulkusta kanama var (+) veya yok (-) şeklinde değerlendirilmiştir. Tüm ağız için SK skoru ise kanama görülen diş sayısının mevcut diş sayısına bölümünün 100 ile çarpılması sonucunda tespit edilmiştir.

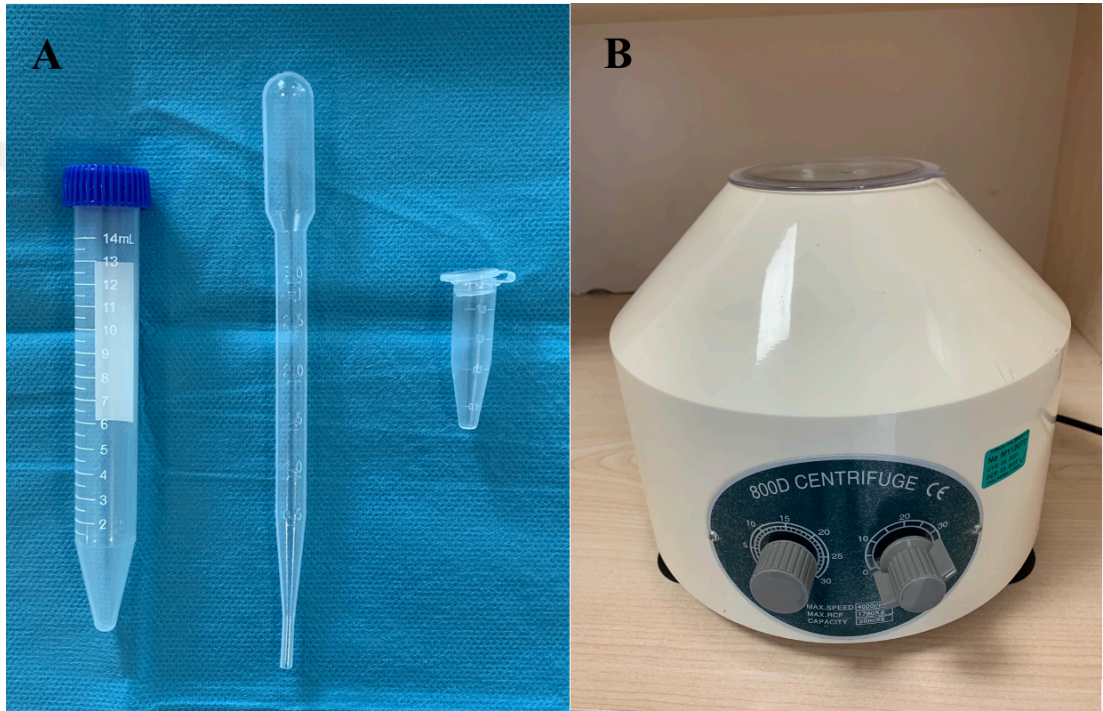
### **3.5. Biyokimyasal Analizler**

Çalışmamızda hastaların tükürük örneklerinde; IL-1 $\beta$  ve IL-39 seviyeleri değerlendirilmiştir.

#### **3.5.1. Tükürük Örneklerinin Toplanması**

Tükürük örnekleri uyarılmamış tükürük toplama tekniği kullanılarak sabah saatlerinde alınmıştır. Hastaların örnek toplanmasından en az 1 saat önce yemek yememiş, sıvı tüketmemiş, dişlerini fırçalamamış, ağız gargarası kullanmamış ve sakız çiğnememiş

olmalarını istenmiştir. Sonrasında ağız tabanında biriken tükürük, en az 5 dakika boyunca, steril bir kaptan en az 5 ml olacak şekilde toplanmıştır.<sup>(139)</sup> Toplanan tükürük örnekleri pasteur pipeti yardımıyla falkon tüplerine aktararak 10 dakika boyunca 3000 rpm’de santrifüj edilmiş ve tabanda oluşan çökeltiyeye dokunulmadan yüzeydeki berrak sıvı pasteur pipetlerle 1,5 ml hacminde alınarak eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Tükürük örneklerinde herhangi bir yabancı maddenin bulunduğu durumlarda örnekler yenilenmiştir. Toplanan tükürük örnekleri analiz gününe kadar -20°C’de saklanmıştır.



Şekil 3.2. A) Soldan sağa sırayla Falkon tüpü- Pastör pipeti- Eppendorf tüpü B) Santrifüj cihazı

### 3.5.2. Tükürük Örneklerinin Hazırlanması

Analiz gününe kadar, -20°C’de saklanan tükürük örnekleri oda sıcaklığında tamamen çözülene kadar bekletilmiştir. Daha sonra tükürük örneklerinin analizi için enzim bağımlı immün absorban yöntemi (ELISA) uygulanmıştır.

### 3.5.3. Tükürük Örneklerinin Biyokimyasal Analizi

Tükürük örneklerinin IL-1 $\beta$  ve IL-39 seviyeleri ölçümü, FARMASİNA Tıbbi ve Kimyevi Ürünler San. Tic. Ltd. Şti.’nin laboratuvarları tarafından IL-1 $\beta$  (INVITROGEN IL-1 $\beta$  Human ELISA KİT 96T, Bender MedSystems GmbH, Vienna,

Austria) ve IL-39 (MyBioSource, IL-39 ELISA KİT Inc.P.O. Box 153308 San Diego,) için ELISA kitleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3. Çalışmamızda kullanılan Elisa kitleri (IL-1 $\beta$  ve IL-39)

### 3.5.3.1. IL-1 $\beta$ Seviyelerinin Belirlenmesi

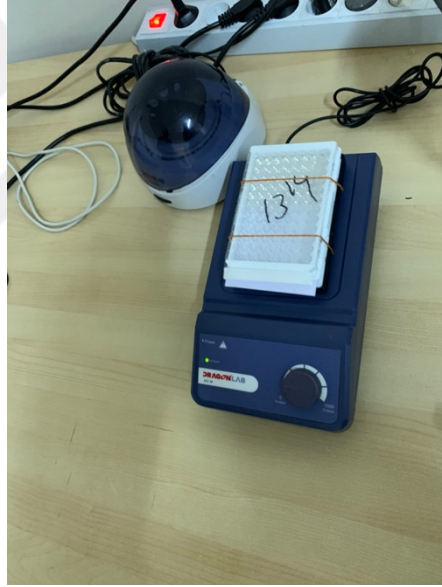
Tükürük IL-1 $\beta$  seviyelerinin belirlenmesi için üretici firma tarafından belirlenen prosedürler doğrultusunda analiz yapılmıştır. İşlem öncesinde kitler ve örneklerin oda sıcaklığına gelmesi için, kitler ve örnekler oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra üretici firmanın belirlediği test protokol aşamaları sırasıyla gerçekleştirilmiştir.

1. Teste başlamadan önce reaktifler hazırlandı ve gerekli kuyucuk sayısı belirlendi.
2. Plaka, pipetleme öncesinde, kullanım klavuzunda belirtilen yönergeler doğrultusunda 400  $\mu$ l yıkama solüsyonu kullanılarak, mikropilaka yıkayıcıda 2 kez yıkandı. (Şekil 3.4.)
3. Standart kuyucuklarına, harici standart seyreltme yöntemiyle hazırlanan standartlardan 100  $\mu$ l eklendi.

4. Örnekler için ayrılmış kuyucuklara 50 µl örnek eklendi. Daha sonra örnek kuyucuklarına 50 µl örnek seyreltici eklendi.
5. Tüm kuyucuklara 50 µl Biotin – Konjugat solüsyonu eklendi.
6. Plaka yapışkan bir film ile kapatıldı ve 2 saat boyunca oda sıcaklığında (18°C ile 25°C arasında) mikrolaka çalkalayıcıda inkübe edildi.
7. Mikrolaka yıkayıcı kullanılarak plakalar 3 kez daha yıkandı.
8. Tüm kuyucuklara 100 µl seyreltilmiş Streptavidin – HRP solüsyonu eklendi ve plaka yapışkan bir film ile kapatılarak , 1 saat boyunca oda sıcaklığında (18°C ile 25°C arasında) mikrolaka çalkalayıcıda inkübe edildi.
9. Mikrolaka yıkayıcı kullanılarak plakalar 3 kez daha yıkandı.
10. Tüm kuyucuklara 100 µl TMB Substrat Solüsyonu eklendi.
11. Plaka, renklenmesi için 10 dakika boyunca oda sıcaklığında (18°C ile 25°C arasında) ve karanlıkta inkübe edildi. Bu işlem sonucunda kuyucuklardaki mavi renk sarı renge döndü. (Şekil 3.6.)
12. Tüm kuyucuklara 100 µl stop (durdurma) solüsyonu eklendi.
13. ELX – 800 (ELx-800, µQuant, BioTek Instruments, Inc, Winooski, Vermont, ABD) mikrolaka okuyucu kullanılarak 450 nm’de Optik Yoğunluk (O.D.) ölçümü yapıldı. (Şekil 3.7.)
14. Cihaza ait GEN5 yazılımı ile elde edilen standart grafiği yardımıyla örnek konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 3.4. Plakanın mikropilaka yıkayıcıda yıkanması



Şekil 3.5. Plakanın çalkalayıcıda inkübe edilmesi



Şekil 3.6. Durdurma solüsyonu eklenmesiyle mavi rengin sarı renge dönüşümü



Şekil 3.7. Mikroplaka okuyucu kullanılarak 450 nm'de Optik Yoğunluğun Belirlenmesi

### 3.5.3.2. IL-39 Seviyelerinin Belirlenmesi

Tükürük IL-39 seviyelerinin belirlenmesi için üretici firma tarafından belirlenen prosedürler doğrultusunda analiz yapılmıştır. İşlem öncesinde kitler ve örneklerin oda sıcaklığına gelmesi için, kitler ve örnekler oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra üretici firmanın belirlediği test protokol aşamaları sırasıyla gerçekleştirilmiştir.

- 1-Test prosedürüne başlanmadan reaktifler hazırlandı ve gerekli kuyucuk sayısı belirlendi.
- 2-Standart kuyucuklarına daha seri dilüsyon ile hazırlanmış standartlardan 50µl eklendi.
- 3-Örnek kuyucuklarına 10µl örnek eklendi.
- 4-Daha sonra test numunesi kuyucuğuna 40µl sample diluent eklendi.
- 5-Her kuyucuğa 100µl HRP-konjugat reaktifi eklendi plaka yapışkan bir film ile kapatılarak 60 dakika süreyle 37°C'de inkübe edildi.
- 6-Mikroplaka yıkayıcı kullanılarak plakalar 5 kez 400 ul yıkama solüsyonu ile yıkandı.
- 7-Tüm kuyucuklara 50µl kromojen A solüsyonu ve 50µl kromojen B solüsyonu eklendi. Yavaşça karıştırıldı ve 15 dakika boyunca 37°C'de karanlık ortamda inkübe edildi.
- 8-Tüm kuyucuklara 50µl stop solüsyonu eklendi. Kuyulardaki renk maviden sarıya döndü.
- 9-Mikroplaka okuyucu kullanarak 450 nm'de Optik Yoğunluk (OD) ölçüldü.
- 10-Cihaza ait GEN5 yazılımı ile elde edilen standart grafiği yardımıyla örnek konsantrasyonları hesaplandı.

### **3.6. İstatiksel Analizler**

İstatistiksel analizler IBM SPSS Version 23.0 programı kullanılarak yapıldı. Sağlıklı, gingivitis ve periodontitisli gruplar için yaş, cinsiyet, klinik parametreler (Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK) ve sitokin (IL-1β/IL-39) miktarları bakımından farklılıklar ve ilişkiler istatistiksel analizler yardımıyla incelenmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk normallik testi ile değerlendirilmiştir. Kruskall Wallis, Ki-kare ve Spearman Korelasyon testleri aracılığıyla gruplar arasındaki istatistiksel farklar değerlendirilmiştir.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### **Güç Analizi**

G\*Power 3.1 programı ile hesaplanan güç analizinde; etki büyüklüğü ( $d=0,67$ ) olarak hesaplandığında, 0,05 hata payı, 0,80 güç ile çalışmaya dahil edilmesi gereken minimum örneklem sayısı toplam  $n=74$  olarak bulunmuştur.  $n=99$  olarak alındığında çalışmanın gücü %93 olarak hesaplanmıştır.

## 4. BULGULAR

Çalışmamıza 33 periodontal olarak sağlıklı 33 gingivitis 33 periodontitis olmak üzere toplam 100 birey dahil edildi. Bireylerin başlangıç tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK değerleri kaydedilerek, tükürük örnekleri toplandı. Toplanan örneklerde IL-1 $\beta$  ve IL-39 düzeyleri ELISA yöntemiyle tespit edildi. Elde edilen değerler gruplar arasında karşılaştırmalı olarak incelendi.

### 4.1. Demografik Bulgular

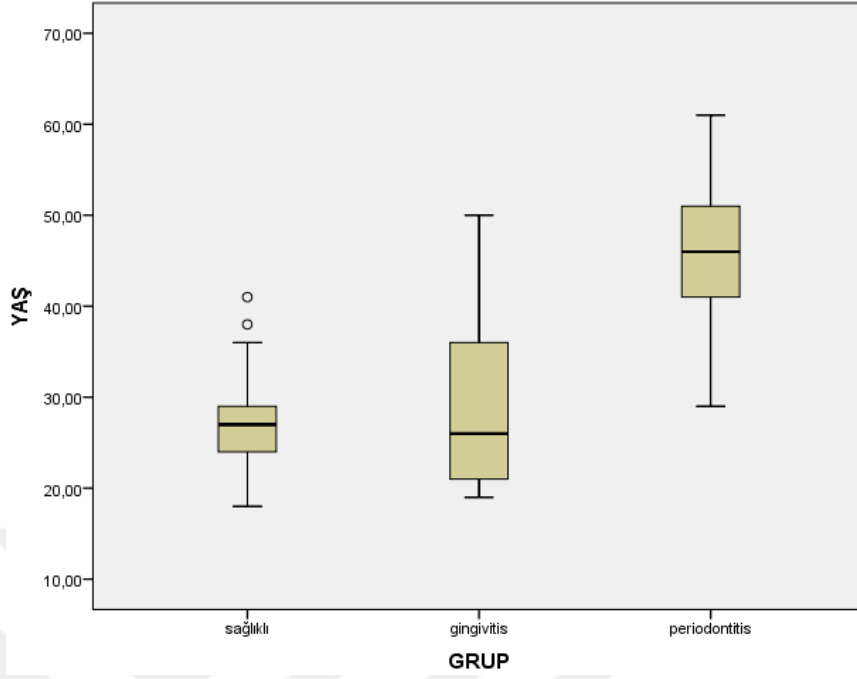
Çalışmaya katılan bireylerin yaşları 18 ile 61 arasında değişmektedir ve yaş ortalamaları 33,98 $\pm$ 11,49'dur. Sağlıklı gruptaki bireylerin yaş aralığı 18 ile 41 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları 26,82 $\pm$ 5,08, gingivitis grubundaki bireylerin yaş aralığı 19 ile 50 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları 29,18 $\pm$ 8,87, periodontitis grubundaki bireylerin yaş aralığı ise 29 ile 61 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 45,94 $\pm$ 8,70'dir. Sağlıklı grup ile gingivitis grubu arasında yaş ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Sağlıklı grup ile periodontitis grubu ve gingivitis grubu ile periodontitis grubu arasında ise yaş ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır. (p=0,05)

Çalışmaya katılan bireylerin yüzde 42,4'ünü erkekler, yüzde 57,6'sını ise kadınlar oluşturmaktadır. Sağlıklı grubundaki bireylerin yüzde 30,03'ü erkek (10 birey), yüzde 69,7'si kadın (23 birey), gingivitis grubundaki bireylerin yüzde 45,5'i erkek (15 birey), yüzde 54,5'i kadın (18 birey), periodontitis grubundaki bireylerin ise yüzde 51,5'i erkek (17 birey), yüzde 48,5'i (16 birey) kadınlardan oluşmaktadır. Gruplar arasında cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. (p=0,05)

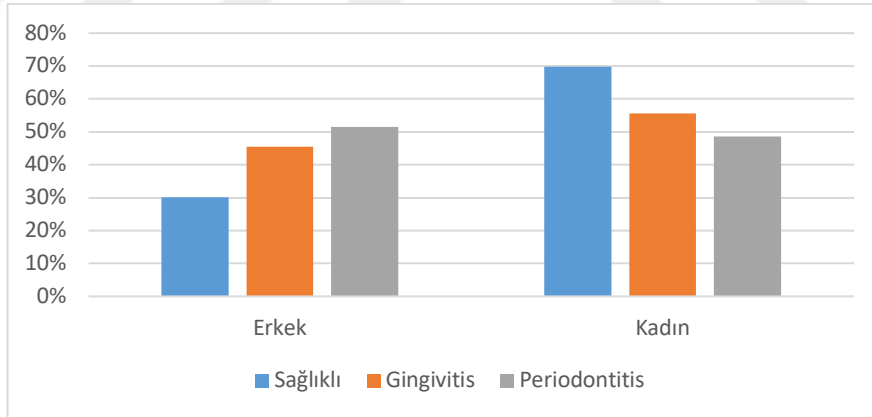
**Tablo 4.1.** Gruplara Ait Demografik Veriler

|          |       | Sağlıklı Grup                 | Gingivitis Grubu              | Periodontitis Grubu           | p değeri |
|----------|-------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------|
| Yaş      |       | 26.82 $\pm$ 5,08 <sup>a</sup> | 29,18 $\pm$ 8,87 <sup>a</sup> | 45,94 $\pm$ 8,70 <sup>b</sup> | 0.05     |
| Cinsiyet | Erkek | 10                            | 15                            | 17                            | 0.05     |
|          | Kadın | 23                            | 18                            | 16                            |          |

\*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.



Şekil 4.1. Yaş Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı



Şekil 4.2. Grupların Cinsiyete Göre Dağılımı

#### 4.2. Gruplar Arası Klinik Parametlerin Karşılaştırılması

Sağlıklı bireyler, gingivitise sahip bireyler ve periodontitise sahip bireylerin klinik parametreleri incelenmiştir.

Sağlıklı grubun PI değerlerinin ortalaması  $0,32 \pm 0,23$ , gingivitis grubunun PI değerlerinin ortalaması  $0,97 \pm 0,53$  ve periodontitis grubunun PI değerlerinin

ortalaması  $1,40\pm 0,67$ 'dir. Sağlıklı grup ile gingivitis grubu ve sağlıklı grup ile periodontitis grubu arasında PI değerlerinin ortalaması açısından anlamlı fark bulunmasına rağmen, gingivitis grubu ve periodontitis grubu arasında PI değerlerinin ortalaması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. ( $p=0.05$ )

Sağlıklı grubun GI değerlerinin ortalaması  $0,15\pm 0,09$ , gingivitis grubunun GI değerlerinin ortalaması  $0,84\pm 0,36$  ve periodontitis grubunun GI değerlerinin ortalaması  $1,19\pm 0,56$ 'dır. Sağlıklı grup ile gingivitis grubu ve sağlıklı grup ile periodontitis grubu arasında GI değerlerinin ortalaması açısından anlamlı fark bulunmasına rağmen, gingivitis grubu ve periodontitis grubu arasında GI değerlerinin ortalaması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. ( $p=0.05$ )

Sağlıklı grubun SCD ortalama değeri  $2,13\pm 0,31$ , gingivitis grubunun SCD ortalama değeri  $2,22\pm 0,14$  ve periodontitis grubunun SCD ortalama değeri  $3,21\pm 0,63$ 'tür. Sağlıklı grupla gingivitis grubu arasında SCD ortalama değeri açısından anlamlı bir fark bulunamamasına rağmen, periodontitis grubu ile sağlıklı grup ve periodontitis grubu ile gingivitis grubu arasında SCD ortalama değeri açısından anlamlı bir fark bulunmuştur. ( $p=0.05$ )

Sağlıklı grubun KAS ortalama değeri  $2,14\pm 0,31$ , gingivitis grubunun KAS ortalama değeri  $2,22\pm 0,14$  ve periodontitis grubunun KAS ortalama değeri  $3,37\pm 0,68$ 'dir. Sağlıklı grupla gingivitis grubu arasında KAS ortalama değeri açısından anlamlı bir fark bulunamamasına rağmen, periodontitis grubu ile sağlıklı grup ve periodontitis grubu ile gingivitis grubu arasında KAS ortalama değeri açısından anlamlı bir fark bulunmuştur. ( $p=0.05$ )

SK değerlerinin yüzdelik ortalaması sağlıklı grupta  $7,05\pm 3,6$ , gingivitis grubunda  $42,22\pm 18,79$  iken periodontitis grubunda  $60,03\pm 26,78$  olarak gözlemlenmektedir. Sağlıklı grup ile gingivitis grubu ve sağlıklı grup ile periodontitis grubu arasında SK değerlerinin yüzdelik ortalaması açısından anlamlı fark bulunmasına rağmen, gingivitis ve periodontitis grubu arasında SK değerlerinin yüzdelik ortalaması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. ( $p=0.05$ )

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

|            | Sağlıklı grup<br>(Ort±SS) | Gingivitis Grubu<br>(Ort±SS) | Periodontitis<br>Grubu<br>(Ort±SS) | p değeri |
|------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------------|----------|
| <b>PI</b>  | 0,32±0,23 <sup>a</sup>    | 0,97±0,53 <sup>b</sup>       | 1,40±0,67 <sup>b</sup>             | 0,05     |
| <b>GI</b>  | 0,15±0,09 <sup>a</sup>    | 0,84±0,36 <sup>b</sup>       | 1,19±0,56 <sup>b</sup>             | 0,05     |
| <b>SCD</b> | 2,13±0,31 <sup>a</sup>    | 2,22±0,14 <sup>a</sup>       | 3,21±0,63 <sup>b</sup>             | 0,05     |
| <b>KAS</b> | 2,13±0,3 <sup>a</sup>     | 2,22±0,14 <sup>a</sup>       | 3,37±0,68 <sup>b</sup>             | 0,05     |
| <b>SK</b>  | 7,05±3,6 <sup>a</sup>     | 42,22±18,7 <sup>b</sup>      | 60,03±26,78 <sup>b</sup>           | 0,05     |

\*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder

### 4.3. Gruplar Arası Tükürük IL-1 $\beta$ ve IL-39 Seviyelerinin Karşılaştırılması

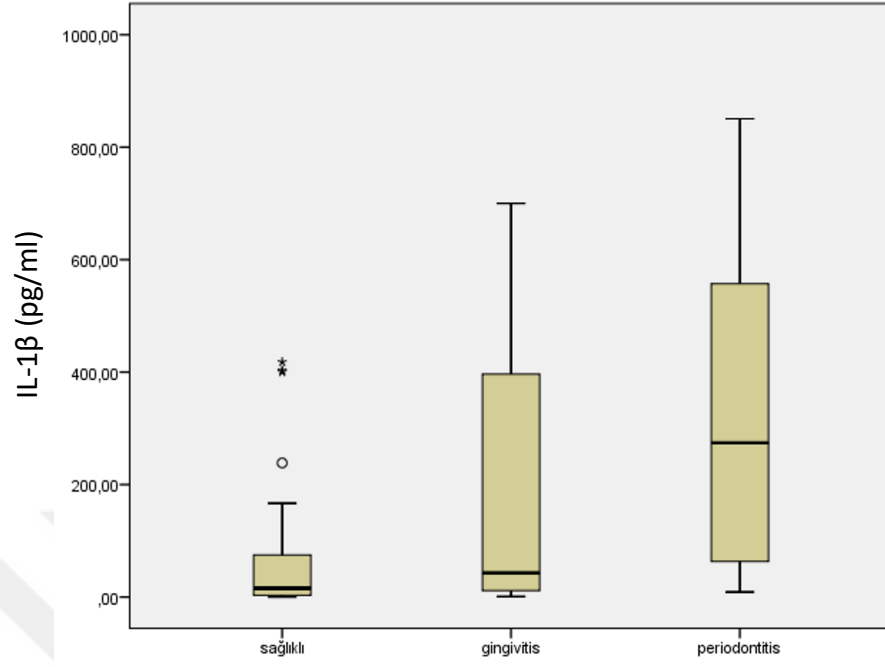
Tükürük IL-1 $\beta$  ve IL-39 düzeyleri sağlıklı, gingivitis ve periodontitis grupları arasında karşılaştırılmıştır. Tükürük IL-1 $\beta$  düzeylerinin ortalaması sağlıklı grupta 72,42±120,98 pg/ml, gingivitis grubunda 201,24±243,45 pg/ml ve periodontitis grubunda ise 321,38±279,51 pg/ml'dir. Sağlıklı grup ile gingivitis grubu arasında tükürük IL-1 $\beta$  düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Tükürük IL-1 $\beta$  düzeylerinin periodontitis grubunda; hem sağlıklı gruptan hem de gingivitis grubundan daha yüksek olduğu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur. (p=0.05)

Tükürük IL-39 düzeylerinin ortalaması ise sağlıklı grupta 14,06±2,98 pg/ml, gingivitis grubunda 13,57±2,81 pg/ml ve periodontitis grubunda ise 14,15±2,63 pg/ml olarak bulunmuştur. Tükürük IL-39 düzeyleri; sağlıklı, gingivitis ve periodontitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir.

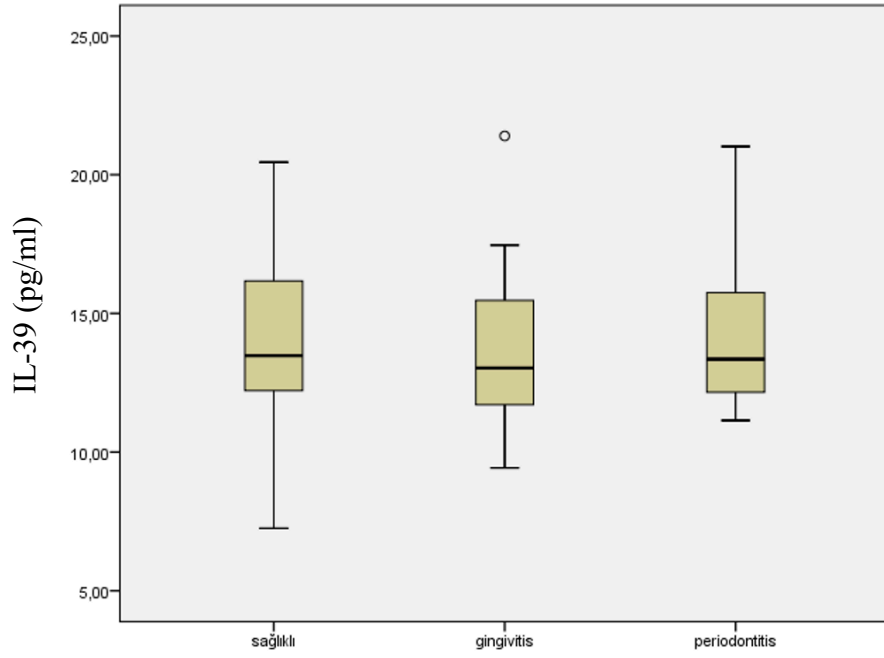
**Tablo 4.3.** Tükürük IL-1 $\beta$  ve IL-39 Seviyelerinin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması

|   | Sağlıklı Grup             | Gingivitis Grubu           | Periodontitis Grubu        | p değeri |
|---|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------|
| <b>IL-1<math>\beta</math><br/>(pg/ml)</b> | 72,42±120,98 <sup>a</sup> | 201,24±243,45 <sup>a</sup> | 321,38±279,51 <sup>b</sup> | 0,05     |
| <b>IL-39<br/>(pg/ml)</b>                  | 14,06±2,98 <sup>a</sup>   | 13,57±2,81 <sup>a</sup>    | 14,15±2,63 <sup>a</sup>    | 0,05     |

\*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder



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



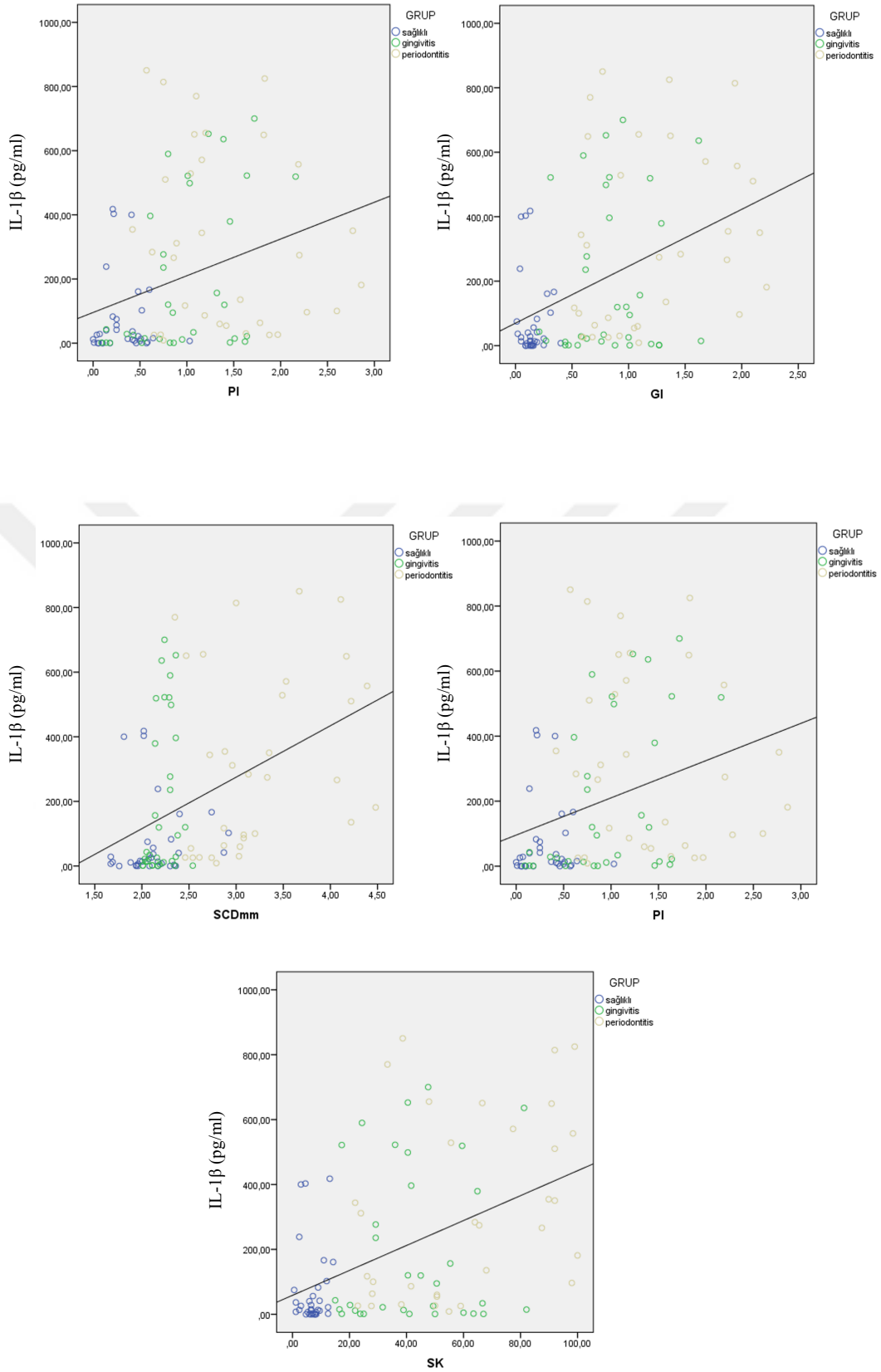
Şekil 4.4. IL-39 Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı

#### 4.4. Tükürük IL-1 $\beta$ , IL-39 Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

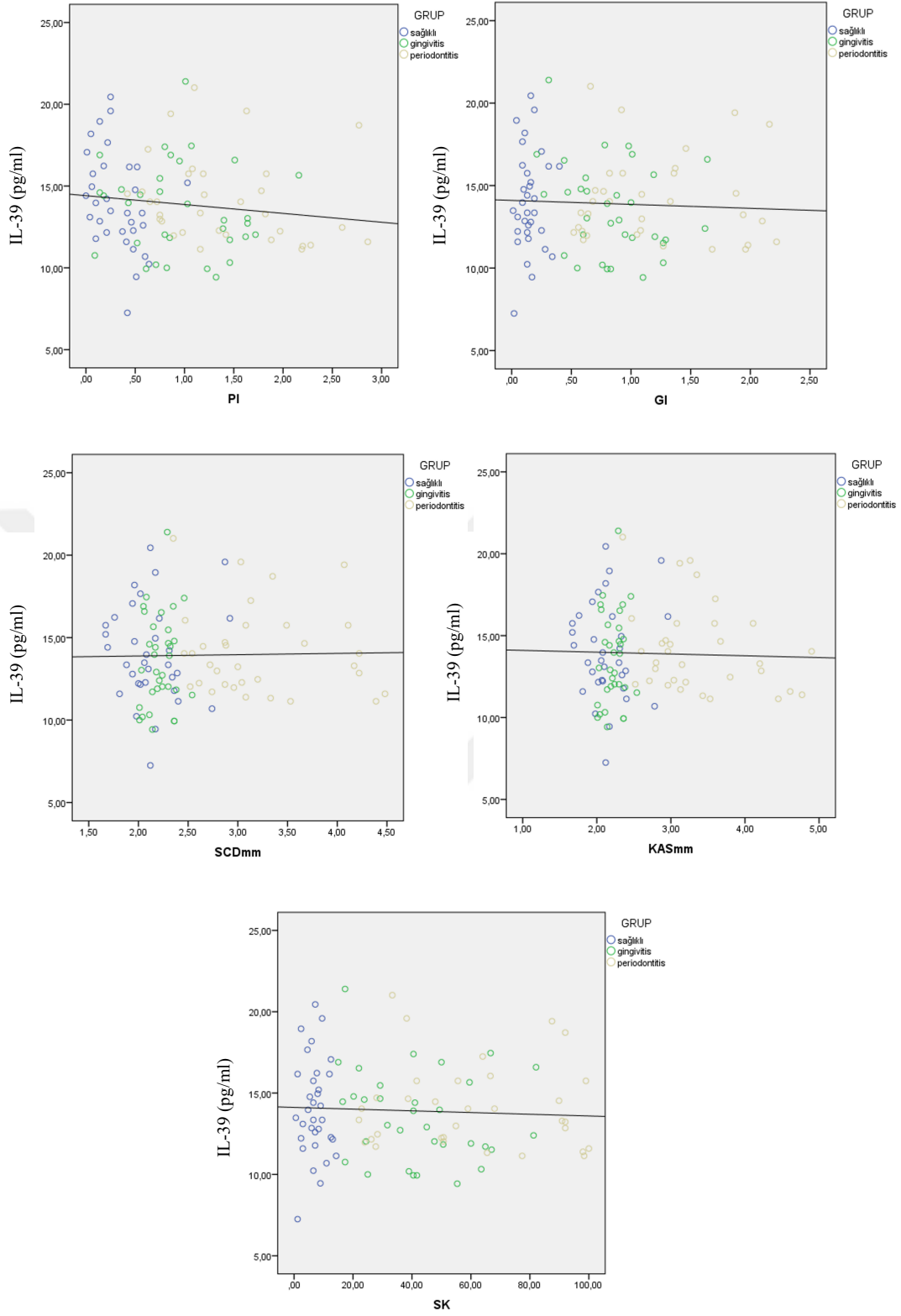
Tükürük örneklerinden elde edilen IL-1 $\beta$  seviyeleri ile klinik parametrelerin tamamı PI (r=0,448), GI (r=0,435), SCD (r=0,503), KAS (r=0,473), SK (r=0,445) arasında pozitif istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Tükürük IL-39 seviyeleri ile tüm klinik parametreler, PI (r:-0,181), GI (r:-0,085), SCD (r:-0,017), KAS (r:-0,015), SK (r:-0,095) arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

**Tablo 4.6.** Tükürük IL-1 $\beta$  ve IL-39 Seviyeleri ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

| Sperman's Rho        |   | Klinik Parametreler |       |       |       |       |
|----------------------|---|---------------------|-------|-------|-------|-------|
|                      |   | PI                  | GI    | SCD   | KAS   | SK    |
| IL-1 $\beta$ (pg/ml) | r | ,448                | ,435  | ,503  | ,473  | ,445  |
|                      | p | ,001                | ,001  | ,001  | ,001  | ,001  |
| IL-39 (pg/ml)        | r | -,181               | -,085 | -,017 | -,015 | -,095 |
|                      | p | ,001                | ,001  | ,001  | ,001  | ,001  |



Şekil 4.5. Tükürük IL-1 $\beta$  Seviyeleri ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki



Şekil 4.6. Tükürük IL-39 Seviyeleri ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

## 5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar terimi; dişeti, bağ dokusu ve alveolar kemiği etkileyen çok çeşitli kronik inflamatuvar durumları kapsar.<sup>(140)</sup> Mikrobiyal dental plak, periodontal hastalıkların ana etyolojisidir. Fakat periodontal dokularda oluşan hasar, konağın mikrobiyal dental plağa verdiği yanıt ve mikroorganizmaların kendi ürettiği toksinlerden kaynaklanır.<sup>(141)</sup> Bununla birlikte, konağın mikrobiyal dental plağa verdiği yanıtı arttırabilen durumlar mevcuttur ve risk faktörleri olarak adlandırılır.<sup>(142)</sup>

Risk faktörleri, bireylerin hastalığa duyarlılığını veya direncini değiştiren durumlardır. Periodontal hastalık için risk faktörleri, hastalığın başlamasında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar.<sup>(143)</sup> Çalışmamızın sonuçlarını etkilememesi açısından, periodontal hastalıklar için risk faktörleri değerlendirilerek, bu risk faktörlerine sahip bireyler çalışma dışı tutulmuştur.

Çalışmamızdaki grupların demografik verileri cinsiyet açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. ( $p>0,05$ ) Çalışma gruplarındaki bireylerin yaş ortalamaları değerlendirildiğinde, periodontitisli grubun yaş ortalamasının ( $26.82\pm5,08$ ); hem sağlıklı gruptan ( $26.82\pm5,08$ ) hem de gingivitis grubundan ( $29,18\pm8,87$ ) yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuç, periodontal hastalıkların görülme prevalansının yaş ile birlikte arttığını bildiren çalışmalarla<sup>(144-147)</sup> uyumlu olsa bile çalışmamıza ait bir limitasyondur.

Sigara içmek periodontal hastalığın başlangıcı, yaygınlığı ve şiddeti için bağımsız bir risk faktörüdür.<sup>(148)</sup> Nikotin, periferik kan damarlarında bir vazokonstriksiyona neden olur ve bu nedenle gingivitisin klinik belirtilerini azaltabilir.<sup>(149)</sup> Danielsen ve arkadaşlarının, sigara içenler ve içmeyenler üzerinde deneysel gingivitis oluşturduğu çalışmada, iki grupta da benzer miktarda plak birikimi olduğu gözlenmiş fakat klinik olarak sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre daha az gingival enflamasyon görülmüştür.<sup>(150)</sup> Klinik veriler, klinik ataçman kaybı ve alveolar kemik kaybı ile ölçülen periodontitis gelişme riskinin sigara kullanımı ile arttığını bildirmiştir.<sup>(151)</sup> Grossi ve arkadaşlarının yaşları 25 ila 74 arasında değişen 1361 kişide yaptıkları çalışmada, sigara içenlerin sigara içmeyenlere göre şiddetli kemik kaybı yaşama riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir.<sup>(152)</sup> Stoltenberg ve arkadaşlarının 615 yetişkin üzerinde yaptığı çalışmada; yaş, cinsiyet, plak ve diştaşı gibi standardizasyonu

etkileyen faktörler kontrol edildikten sonra, rastgele seçilen bir posterior sekstantta en az 3,5 mm ortalama sondlama derinliğine sahip olma olasılığının, sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre 5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir.<sup>(153)</sup> Ayrıca kemik yıkımında önemli gösterge olan RANKL/osteoprotegrin tükürük düzeylerinin oranının sigara içenlerde sigara içmeyenlere oranla daha yüksek olduğu gösterilmiştir.<sup>(154)</sup> Bu nedenle çalışmamıza dahil edilen bireylerin sigara kullanmıyor olmalarına dikkat edilmiştir.

Diyabetin periodontitis için önemli bir risk faktörü olduğu kesin olarak doğrulanmıştır.<sup>(142, 155)</sup> Diyabet hastası bireylerde periodontitise yakalanma riski diyabet hastası olmayanlara göre yaklaşık üç kat artmıştır.<sup>(156)</sup> Kronik hiperglisemi, dişetinde artmış vasküler geçirgenlik, artmış lökosit adhezyon molekülü ekspresyonu ve artmış lökosit yuvarlanması dahil olmak üzere birçok açıdan akut enflamasyonla karşılaştırılabilen bir ortam yaratmaktadır.<sup>(157)</sup>

Hem osteoporoz hem de periodontitis kemik kaybı ile sonuçlanan hastalıklar olduğundan dolayı, osteoporozun periodontal hastalığın ilerlemesi için bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir.<sup>(158)</sup> Hamile kadınlarda özellikle gingivitis olmak üzere daha yüksek periodontal hastalık prevalansı bildirilmiştir.<sup>(159)</sup> Seks hormonlarının hamilelik boyunca geçici olarak yükselmesi, gingival enflamasyonun prevalansında, kapsamında ve şiddetindeki artışla ilişkilendirilmiştir.<sup>(160)</sup> Bu sebeplerden dolayı sistemik hastalığa sahip bireyler çalışmamıza dahil edilmemiştir.

Sistemik antibiyotik kullanımının, periodontal patojenlerin sayısını, konak yanıtını ve tükürük içeriğini etkileyebileceği bildirilmiştir.<sup>(161, 162)</sup> Çalışmaya dahil edilme kriterleri literatürde farklılıklar göstermektedir. Çalışmalara dahil edilen bireylerin genelde son 1 ay<sup>(163)</sup>, son 2 ay<sup>(164)</sup>, son 3 ay<sup>(165)</sup> ve son 6 ay<sup>(166)</sup> gibi farklı zaman aralıklarında ilaç kullanılmadığını bildiren yayınlar bulunmaktadır. Literatürde en çok son 6 ay ilaç kullanılmadığını bildiren çalışmalar olmasından dolayı, biz de çalışmamıza katılacak olan bireylerin son 6 ay içerisinde antibiyotik kullanmamış olmasına dikkat ettik.

Çalışmaya dahil edilen bireylerin periodontal durumlarının belirlenebilmesi amacıyla periodontal klinik parametreler (Pİ, Gİ, SCD, SK, KAS) kullanılmıştır. Pİ, diş üzerindeki mevcut plak miktarının tespit edilerek oral hijyen durumunun

değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır.<sup>(167)</sup> Gİ, gingival enflamasyonun şiddetinin tespit edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Gİ, dişetin rengi, kıvamı ve sondlamadan sonra veya spontan kanama olup olmasına göre derecelendirilir.<sup>(138)</sup> Çalışmamızda periodontal indekter arasında en sık kullanılanları olmaları sebebiyle; Pİ olarak Silness-Löe'nün plak indeksi, Gİ olarak Löe-Silness'in gingival indeksi tercih edilmiştir.

KAS ve SCD, bireyin mevcut periodontal hastalık durumu ve geçmişteki periodontal hastalık durumu hakkında bilgi verir.<sup>(168)</sup> KAS ve SCD ölçümü; basit olması, altın standart olması gibi avantajlarından dolayı Williams periodontal sondu kullanılarak yapılmıştır.<sup>(169)</sup>

Gingival dokulardaki enflamasyonunun belirlenebilmesi için kullanılan en iyi belirteç SK parametresidir.<sup>(170)</sup> Klinik ve histolojik veriler, sondlamada kanamanın, enflamasyonun görsel belirtilerinden (eritem ve ödem) daha erken bir gingivitis belirtisi olduğunu göstermektedir.<sup>(171)</sup>

Periodontal hastalık ve ilişkili sitokinlerin araştırıldığı geçmiş çalışmalar genel olarak serum ve DOS örneklerine odaklanmıştır. Bununla birlikte; daha kolaylıkla ve daha fazla hacimde elde edilebilmesi, daha az invaziv olması gibi avantajları sebebiyle son zamanlarda tanı aracı olarak tükürüğe olan ilgi artmaktadır.<sup>(24, 172)</sup> Ayrıca DOS içeriği sadece ilgili bölgedeki enflamatuvar durum hakkında bilgi verirken, tükürük içeriği tüm ağzın enflamatuvar durumu hakkında bilgi vermektedir.<sup>(26)</sup> Tükürük örnekleri uyarılmış veya uyarılmamış tükürük olarak toplanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, uyarılma ile tükürüğün akış hızı artacağından dolayı biyomarker konsantrasyonlarında değişiklik meydana gelebileceği gösterilmiştir.<sup>(126, 173)</sup> Ayrıca uyarılmış tükürüğe kıyasla uyarılmamış tükürük, içerik ve kompozisyon olarak plazmaya daha yakın bir yapı sergilemektedir.<sup>(174)</sup> Bu bilgiler ışığında çalışmamızda uyarılmamış tükürük örnekleri toplamayı tercih ettik.

Tükürüğün kompozisyonu; diş fırçalama, yeme içme kaynaklı mekanik irritasyon gibi durumlardan da etkilenmektedir.<sup>(175)</sup> Ayrıca klinik parametreler değerlendirilirken uygulanan sondlama işleminin yarattığı mekanik travma da tükürük içeriğini etkileyebilmektedir.<sup>(176)</sup> Bu yüzden hastalardan tükürük örnekleri alınmadan en az 1 saat öncesine kadar şey yiyip içmemeleri, dişlerini fırçalamamaları istenmiştir ve

linik parametrelerin ölçümü işlemi, tükürük örneklerinin toplanmasından sonra yapılmıştır.

ELISA yöntemi, bir numunedeki belirli bir maddeyi saptamak ve ölçmek için kullanılır.<sup>(177)</sup> Bu saptamayı yapmak için de antijen ve antikor arasında oluşan reaksiyondan faydalanır. Bu reaksiyondan yararlanarak ELISA; proteinler, peptitler, nükleik asitler, hormonlar ve sitokinler dahil olmak üzere çoğu maddenin oldukça hassas ve seçici kantitatif / kalitatif analizine izin verir.<sup>(178)</sup> ELISA'lar genellikle güvenilir, hızlı ve yüksek verimlilikle numune analizine imkan sağlayan tekniklerdir.<sup>(179)</sup> ELISA tekniği; direk, indirek, sandviç ve kompetatif olmak üzere farklı türlere sahiptir.<sup>(180)</sup> Sandviç ELISA yöntemi, dezavantajları olmasına rağmen yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmasından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır.<sup>(177)</sup> Bu sebeplerden dolayı biz de çalışmamızda Sandviç ELISA yöntemini kullandık.

Sitokinler; bağışıklık tepkilerinin düzenlenmesini ve belirlenmesini sağlayan bağışıklık hücrelerinin hücresel düzenini ve trafiğini kontrol eden düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir.<sup>(13, 87)</sup> Sitokinlerin çoğalma, gelişme, farklılaşma, homeostaz, rejenerasyon onarım ve enfeksiyon dahil olmak üzere birçok görevi vardır.<sup>(88)</sup> Sitokinler periodontal hastalığın başlamasında ve ilerlemesinde de önemli rol oynamaktadır.<sup>(181)</sup> Periodontal hastalıkta inflamasyona ve doku hasarına yol açan sitokinler proinflamatuvar sitokinlerdir. Bu sitokinlere örnek olarak IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-17 verilebilir.<sup>(107)</sup> IL-1 $\beta$ , periodontal hastalığı olan bireylerin dişeti dokusunda spesifik olarak ölçülen ve periodontal hastalıkta tükürük biyobelirteçleri arasında klinik çalışmalarda en kapsamlı çalışılan sitokindir.<sup>(18)</sup> Ayrıca dişeti dokusunda proinflamatuvar sitokinlerin seviyesinin değerlendirildiği bir çalışmada, IL-1 $\beta$  içeren hücre sayısının IL-1 $\alpha$  içeren hücre sayısına oranla 40 kat ve TNF- $\alpha$  içeren hücre sayısına oranla 5 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir.<sup>(182)</sup> Çalışmamızda, periodontal olarak sağlıklı, gingivitise sahip ve periodontitise sahip bireylerde tükürükteki proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 $\beta$  ve en son keşfedilmiş sitokinlerden olan IL-39 seviyeleri değerlendirilmiştir.

Tükürükteki IL-1 $\beta$  düzeylerini inceleyen 13 çalışmanın dokuzunda sağlıklı kontrollere kıyasla periodontitisli bireylerde önemli ölçüde daha yüksek IL-1 $\beta$  düzeyleri tespit

edilmiştir.<sup>(26, 105, 183-189)</sup> Ayrıca periodontal tedavi sonrası tükürük IL-1 $\beta$  düzeylerinin düştüğünü bildiren çalışmalar da mevcuttur.<sup>(105, 186, 190)</sup>

Miller ve arkadaşlarının<sup>(26)</sup> 28 periodontitisli ve 29 sağlıklı bireyde tükürükteki IL-1 $\beta$  seviyelerini incelediği çalışmada, sağlıklı bireylere kıyasla, periodontitisli bireylerde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek IL-1 $\beta$  seviyeleri rapor edilmiştir. Ayrıca SK ve KAS değerleri ile IL-1 $\beta$  seviyeleri ile arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Arroyave ve arkadaşlarının<sup>(189)</sup> 48 periodontitisli ve 18 sağlıklı bireyde tükürükteki IL-1 $\beta$  seviyelerini incelediği çalışmada, sağlıklı bireylere kıyasla, periodontitisli bireylerde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek IL-1 $\beta$  seviyeleri rapor edilmiştir. Ayrıca SCD ve KAS değerleri ile IL-1 $\beta$  seviyeleri arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Gürsoy ve arkadaşlarının<sup>(185)</sup> 84 periodontitisli ve 81 sağlıklı bireyde tükürükteki IL-1 $\beta$ , elastaz, laktat dehidrojenaz, interlökin-6 ve TNF-a seviyelerini incelediği çalışmada, sağlıklı bireylere kıyasla, periodontitisli bireylerde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek IL-1 $\beta$  seviyeleri rapor edilmiştir. Ayrıca IL-1 $\beta$ 'nın test edilen diğer sitokin ve enzimlere kıyasla periodontitis grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek konsantrasyonlara sahip tek tükürük biyobelirteci olduğunu bildirmişlerdir.

Ramseier ve arkadaşlarının<sup>(191)</sup> sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli bireylerde tükürükteki IL-1 $\beta$  seviyelerini karşılaştırdığı çalışmanın sonuçları incelendiğinde, sağlıklı ve gingivitis grupları arasında anlamlı bir fark yokken, periodontitis grubunda diğer iki gruba göre daha yüksek IL-1 $\beta$  seviyeleri gözlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada tükürük IL-1 $\beta$  seviyeleri, sağlıklı grupta 72,42 $\pm$ 120,98 pg/ml gingivitis grubunda 201,24 $\pm$ 243,45 pg/ml ve periodontitis grubunda ise 321,38 $\pm$ 279,51 pg/ml olarak ölçülmüştür. Literatüre uyumlu olarak çalışmamızın sağlıklı ve gingivitis grupları arasında tükürük IL-1 $\beta$  seviyeleri bakımından anlamlı bir fark bulunamamışken, periodontitis grubunun tükürük IL-1 $\beta$  seviyeleri diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı şekilde IL-1 $\beta$  miktarı ile PI (r=0,448), GI (r=0,435), SCD (r=0,503), KAS (r=0,473), SK (r=0,445) arasında pozitif korelasyon görülmektedir (p<0,05).

Günümüzde hastalıkların patogenezinin aydınlatılabilmesi için sitokinler üzerinde çok fazla çalışma yapılmaktadır. LPS ile uyarılan B hücreleri tarafından salgılanan IL-39'un proenflamatuar bir sitokin olduğu ve SLE gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir.<sup>(192)</sup> Periodontal hastalıklar ile IL-39'un ilişkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada periodontal olarak sağlıklı, gingivitise sahip ve periodontitise sahip bireylerde klinik olarak IL-39 seviyeleri değerlendirilmiştir ve klinik periodontal parametrelerle ilişkisi incelenmiştir.

Wang ve arkadaşlarının<sup>(22)</sup> lupusa eğilimi olan fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, lupus eğilimli farelerin LPS ile uyarılan B hücreleri ve GL7<sup>+</sup> aktive B hücrelerinden IL-23p19 ve EB13 salgılandığı görülmüş ve bu heterodimer IL-39 olarak isimlendirilmiştir. Ayrıca IL-39'un lupus benzeri farelerde STAT1 / STAT3 aktivasyonu yoluyla enflamatuar tepkilere aracılık ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda IL-39'un sistemik lupus eritematozusun immünopatojenik mekanizmalarına katkıda bulunabileceğini ve tedavisi için olası bir hedef olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Wang ve arkadaşları<sup>(114)</sup> yaptıkları bir diğer çalışmada, in vivo ve in vitro olarak IL-39'un lupus eğilimli farelerde nötrofillerin farklılaşması ve/veya genişlemesine sebep olarak enflamasyona aracılık edebileceğini bildirmişlerdir.

Bridgewood ve arkadaşları<sup>(193)</sup> tarafından yapılan çalışmada, IL-39'un STAT3 fosforilasyonu yoluyla sinyal ağını tetiklemediği ve insan lökositlerini uyarmadığı gösterilmiştir. IL-39'a karşı gelişen yanıtın yalnızca farelerde bağışıklık yanıtlarının gelişmesinde rol oynayabileceğini, insanlarda herhangi bir fonksiyonel yanıtı sebep olmadığını düşünmüşlerdir.

Manning ve arkadaşlarının<sup>(194)</sup>, pankreas karsinomundan türetilen hücreler üzerinde yaptıkları çalışmada, IL-39 varlığında pankreas kanseri hücre kolonilerinin yüzdesinin önemli ölçüde arttığını ve IL-39'un pankreas kanser hücreleri üzerinde pro-tümör etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar, IL-39'un, kanser hücrelerinin büyümesini teşvik ederek ve apoptozunu inhibe ederek pankreas kanserinin büyümesini desteklediğini göstermektedir. IL-39'un hücreler üzerindeki etkisinin

inhibisyonunun, pankreas kanserini tedavi etmek için umut verici bir strateji olabileceğini bildirmişlerdir.

Detry ve arkadaşlarının<sup>(195)</sup> insan hücrelerinde IL-12 sitokin ailesi üyelerinin zincir eşleşmelerini incelediği bir çalışmada, IL-12, IL-23, IL-27 ve IL-35 in salgılanabileceği sağlam bir şekilde gösterilmişken IL-39'un koşullandırılmış ortamda bile çok fazla miktarda salgılanamadığı bildirilmiştir.

Yang ve arkadaşları<sup>(196)</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, nöromiyelitis optika spektrum bozuklukları (NMOSD) olan 50 hasta, tekrarlayan-düzelten multipl sklerozlu (RRMS) 20 hasta, inflamatuvar olmayan nörolojik bozuklukları (NND) olan 30 hasta ve 78 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu serum IL-39 seviyeleri açısından karşılaştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre NMOSD'li bireylerde IL-39 serum seviyelerinin diğer gruplardan önemli ölçüde daha yüksek olduğu, RRMS'li bireylerde serum IL-39 seviyelerinin, kontrollere kıyasla önemli ölçüde arttığını, ayrıca RRMS ve NND grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir.

Wang ve arkadaşları<sup>(197)</sup> tarafından yapılan çalışmada, lupusa eğilimli farelere anti-IL-39 antikoru enjekte edildiğinde; enflamatuvar hücre sayısının, otoantikor titrelerinin, proteinürinin, splenomegalinin etkili şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca glomerüler bölgenin yapısının düzenlendiği de bildirilmiştir.

Ramnath ve arkadaşları<sup>(119)</sup> yaptıkları çalışmada IL-39'un hasarlı keratinositler tarafından salgılandığını ve yara iyileşmesine de katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir. Hasarlı hücrelerde onarım sürecini başlatmada büyük öneme sahip olan TLR3 aracılı keratinosit aktivasyonunun, IL-23p19/Ebi3 heterodimer oluşumunu tetiklediğini ve muhtemelen enflamatuvar tepkileri azaltarak yara iyileşmesine katkıda bulunduğunu düşünmüşlerdir.

Scholz ve arkadaşları<sup>(123)</sup> yaptıkları çalışmada; IL-36γ'nın, oral epitel hücrelerinden IL-39'un yapıtaşı olan IL-23p19 ve EBI3'ün üretimini uyardığını göstermişlerdir. Ayrıca IL-36α ve IL-1β'nin da IL-23p19 ve EBI3'ü seçici olarak üretmek için oral epitel hücrelerini uyardığı fakat P. Gingivalisin ise uyarmadığı bildirmişlerdir.

Bilimsel kaynaklar incelendiğinde, diş hekimliği alanında daha önce IL-39 ile ilgili tükürükte yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma, periodontitisli, gingivitisli ve sağlıklı bireylerde tükürükteki IL-39 varlığını araştıran ilk çalışma olup, tükürük

IL-39 seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. ( $p>0,05$ )



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada periodontal sağlıklı, gingivitise sahip ve periodontitise sahip bireylerde tükürük IL-1 $\beta$  ve IL-39 seviyelerinin belirlenmesi ve klinik periodontal parametrelerle ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde;

- 1- İlk defa bir çalışmada tükürük içeriğinde IL-39 araştırılmıştır.
- 2- Örneklerin tamamında IL-39 varlığı tespit edilmiştir.
- 3- Tükürük IL-1 $\beta$  seviyeleri ile klinik periodontal parametreler arasında pozitif korelasyon vardır.
- 4- Tükürük IL-1 $\beta$  seviyeleri periodontitis grubunda diğer iki gruba göre anlamlı derecede yüksektir.
- 5- Tükürük IL-39 seviyelerinde gruplar arası herhangi bir fark tespit edilememiştir.
- 6- Tükürük IL-39 seviyeleri ile klinik periodontal parametreler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.
- 7- IL-39 yeni bir sitokin olduğu için üzerinde daha fazla sayıda çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Nanci A, Bosshardt DD. Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontol 2000*. 2006;40:11-28.
2. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17038.
3. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *The Lancet*. 2005;366(9499):1809-20.
4. 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.
5. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol*. 1965;36:177-87.
6. Parameter on plaque-induced gingivitis. *American Academy of Periodontology. J Periodontol*. 2000;71(5 Suppl):851-2.
7. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque-induced gingival conditions. *J Periodontol*. 2018;89 Suppl 1:S17-S27.
8. Slots J. Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol 2000*. 2017;75(1):7-23.
9. Harvey JD. Periodontal Microbiology. *Dent Clin North Am*. 2017;61(2):253-69.
10. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*. 1990;25(3):156-63.
11. Sakai A, Ohshima M, Sugano N, Otsuka K, Ito K. Profiling the cytokines in gingival crevicular fluid using a cytokine antibody array. *J Periodontol*. 2006;77(5):856-64.
12. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018;89 Suppl 1:S159-S72.
13. Borish LC, Steinke JW. 2. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(2 Suppl):S460-75.
14. Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT. Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2004;35:158-82.
15. Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2008;79(8 Suppl):1585-91.
16. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2003;74(3):391-401.
17. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*. 2010;52(1):163-206.
18. Rangbulla V, Nirola A, Gupta M, Batra P, Gupta M. Salivary IgA, Interleukin-1beta and MMP-8 as Salivary Biomarkers in Chronic Periodontitis Patients. *Chin J Dent Res*. 2017;20(1):43-51.
19. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2002;29(1):48-53.
20. Wang X, Liu X, Zhang Y, Wang Z, Zhu G, Han G, et al. Interleukin (IL)-39 [IL-23p19/Epstein-Barr virus-induced 3 (Ebi3)] induces differentiation/expansion of neutrophils in lupus-prone mice. *Clin Exp Immunol*. 2016;186(2):144-56.

21. Espigol-Frigole G, Planas-Rigol E, Ohnuki H, Salvucci O, Kwak H, Ravichandran S, et al. Identification of IL-23p19 as an endothelial proinflammatory peptide that promotes gp130-STAT3 signaling. *Sci Signal*. 2016;9(419):ra28.
22. Wang X, Wei Y, Xiao H, Liu X, Zhang Y, Han G, et al. A novel IL-23p19/Ebi3 (IL-39) cytokine mediates inflammation in Lupus-like mice. *Eur J Immunol*. 2016;46(6):1343-50.
23. Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontol 2000*. 2009;50:52-64.
24. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis--a review. *J Clin Periodontol*. 2000;27(7):453-65.
25. Giannobile WV, McDevitt JT, Niedbala RS, Malamud D. Translational and clinical applications of salivary diagnostics. *Adv Dent Res*. 2011;23(4):375-80.
26. Miller CS, King CP, Jr., Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J Am Dent Assoc*. 2006;137(3):322-9.
27. Newman T, Klokkevold, Carranza. NEWMAN AND CARRANZA'S CLINICAL PERIODONTOLOGY THIRTEENTH EDITION. 13 ed: Elsevier; 2019.
28. Ostwani AEOA. Introductory Chapter: The Importance of Gingival Treatment and Prevention 2019 [
29. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol 2000*. 2000;24:28-55.
30. Niklaus P, Lang JL. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry* 6th Edition: Wiley-Blackwell; 2015.
31. de Jong T, Bakker AD, Everts V, Smit TH. The intricate anatomy of the periodontal ligament and its development: Lessons for periodontal regeneration. *J Periodontol Res*. 2017;52(6):965-74.
32. Foster BL. On the discovery of cementum. *J Periodontol Res*. 2017;52(4):666-85.
33. Gotsman I, Lotan C, Soskolne WA, Rassoovsky S, Pugatsch T, Lapidus L, et al. Periodontal destruction is associated with coronary artery disease and periodontal infection with acute coronary syndrome. *J Periodontol*. 2007;78(5):849-58.
34. Botero JE, Rosing CK, Duque A, Jaramillo A, Contreras A. Periodontal disease in children and adolescents of Latin America. *Periodontol 2000*. 2015;67(1):34-57.
35. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2004;34:9-21.
36. Darveau RP, Hajishengallis G, Curtis MA. *Porphyromonas gingivalis* as a potential community activist for disease. *J Dent Res*. 2012;91(9):816-20.
37. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018;45 Suppl 20:S1-S8.
38. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Periodontol*. 2018;89 Suppl 1:S9-S16.
39. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018;89 Suppl 1:S74-S84.

40. Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Bragger U, Zwahlen M, et al. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol.* 2008;35(8):685-95.
41. Van der Weijden GA, Timmerman MF, Saxton CA, Russell JI, Huntington E, Van der Velden U. Intra-/inter-examiner reproducibility study of gingival bleeding. *J Periodontal Res.* 1994;29(4):236-41.
42. Page RC. Gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology.* 1986;13(5):345-55.
43. Blicher B, Joshipura K, Eke P. Validation of self-reported periodontal disease: a systematic review. *J Dent Res.* 2005;84(10):881-90.
44. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol.* 2018;45 Suppl 20:S44-S67.
45. Holmstrup P, Plemons J, Meyle J. Non-plaque-induced gingival diseases. *J Clin Periodontol.* 2018;45 Suppl 20:S28-S43.
46. 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. *J Periodontol.* 2018;89 Suppl 1:S173-S82.
47. Preshaw PM, Seymour RA, Heasman PA. Current concepts in periodontal pathogenesis. *Dent Update.* 2004;31(10):570-2, 4-8.
48. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, et al. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol.* 1994;65(3):260-7.
49. Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000.* 2006;40:29-49.
50. Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Amanuma R, Yamazaki K. Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. *Clin Exp Immunol.* 2006;144(1):35-40.
51. Kinane DF, Lappin DF. Clinical, pathological and immunological aspects of periodontal disease. *Acta Odontol Scand.* 2001;59(3):154-60.
52. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976;34(3):235-49.
53. Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14(4):727-52, table of contents.
54. 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.
55. Smith RS, Smith TJ, Blieden TM, Phipps RP. Fibroblasts as sentinel cells. Synthesis of chemokines and regulation of inflammation. *Am J Pathol.* 1997;151(2):317-22.
56. Perdiguero E, Ruiz-Bonilla V, Serrano AL, Munoz-Canoves P. Genetic deficiency of p38alpha reveals its critical role in myoblast cell cycle exit: the p38alpha-JNK connection. *Cell Cycle.* 2007;6(11):1298-303.
57. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest.* 2000;117(4):1162-72.
58. Schwab JM, Serhan CN. Lipoxins and new lipid mediators in the resolution of inflammation. *Curr Opin Pharmacol.* 2006;6(4):414-20.

59. 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.
60. Fiorellini J, Uzel DKN. Gingival Inflammation. In: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Fermin A. Carranza, editors. *Carranza's Clinical Periodontology 11th Edition*. China: W. B Saunders Company; 2012. p. 71-5.
61. Page RC, Davies P, Allison AC. Effects of dental plaque on the production and release of lysosomal hydrolases by macrophages in culture. *Arch Oral Biol*. 1973;18(12):1481-95.
62. Zadeh HH, Nichols FC, Miyasaki KT. The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Periodontol 2000*. 1999;20:239-88.
63. & FCACA-P, Garlet CCBGP. Cytokine Networks Regulating Inflammation and Immune

Defense in the Oral Cavity. *Current Oral Health Reports*. 2014.

64. Mira A, Simon-Soro A, Curtis MA. Role of microbial communities in the pathogenesis of periodontal diseases and caries. *J Clin Periodontol*. 2017;44 Suppl 18:S23-S38.
65. Benakanakere M, Kinane DF. Innate cellular responses to the periodontal biofilm. *Front Oral Biol*. 2012;15:41-55.
66. Iwasaki A, Medzhitov R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science*. 2010;327(5963):291-5.
67. Noguchi S, Ukai T, Kuramoto A, Yoshinaga Y, Nakamura H, Takamori Y, et al. The histopathological comparison on the destruction of the periodontal tissue between normal junctional epithelium and long junctional epithelium. *J Periodontal Res*. 2017;52(1):74-82.
68. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010;140(6):805-20.
69. Song B, Zhang YL, Chen LJ, Zhou T, Huang WK, Zhou X, et al. The role of Toll-like receptors in periodontitis. *Oral Dis*. 2017;23(2):168-80.
70. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*. 2007;43:160-232.
71. Lamkanfi M, Dixit VM. In Retrospect: The inflammasome turns 15. *Nature*. 2017;548(7669):534-5.
72. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2015;69(1):7-17.
73. 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.
74. Smalley JW. Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Adv Dent Res*. 1994;8(2):320-8.
75. Pelletier M, Maggi L, Micheletti A, Lazzeri E, Tamassia N, Costantini C, et al. Evidence for a cross-talk between human neutrophils and Th17 cells. *Blood*. 2010;115(2):335-43.
76. Scapini P, Carletto A, Nardelli B, Calzetti F, Roschke V, Merigo F, et al. Proinflammatory mediators elicit secretion of the intracellular B-lymphocyte stimulator pool (BLYS) that is stored in activated neutrophils: implications for inflammatory diseases. *Blood*. 2005;105(2):830-7.

77. Wenyan Kang ZHSG. Healthy and Inflamed Gingival Fibroblasts Differ in Their Inflammatory Response to Porphyromonas gingivalis Lipopolysaccharide. *Inflammation*. 2016;39.
78. Bhatavadekar NB, Williams RC. Modulation of the host inflammatory response in periodontal disease management: exciting new directions. *Int Dent J*. 2009;59(5):305-8.
79. Ebersole JL, Graves CL, Gonzalez OA, Dawson D, 3rd, Morford LA, Huja PE, et al. Aging, inflammation, immunity and periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2016;72(1):54-75.
80. Gemmell E, Seymour GJ. Cytokine profiles of cells extracted from humans with periodontal diseases. *J Dent Res*. 1998;77(1):16-26.
81. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998;392(6673):245-52.
82. Moser B, Wolf M, Walz A, Loetscher P. Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends Immunol*. 2004;25(2):75-84.
83. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 1997;14:112-43.
84. Dutzan N, Gamonal J, Silva A, Sanz M, Vernal R. Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, interleukin (IL) -17, IL-10 and transforming growth factor-beta during the progression of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2009;36(5):396-403.
85. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, Makihira S, Seki M, Karimbux NY, et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol*. 2006;169(3):987-98.
86. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol 2000*. 2008;48:92-110.
87. Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13(4-5):413-21.
88. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9(3):248-66.
89. Jaedicke KM, Preshaw PM, Taylor JJ. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2016;70(1):164-83.
90. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007;45(2):27-37.
91. Balkwill FR, Burke F. The cytokine network. *Immunol Today*. 1989;10(9):299-304.
92. Naegelen I, Beaume N, Plancon S, Schenten V, Tschirhart EJ, Brechard S. Regulation of Neutrophil Degranulation and Cytokine Secretion: A Novel Model Approach Based on Linear Fitting. *J Immunol Res*. 2015;2015:817038.
93. Mantovani A, Dinarello CA, Molgora M, Garlanda C. Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. *Immunity*. 2019;50(4):778-95.
94. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:519-50.
95. Copray JC, Mantingh I, Brouwer N, Biber K, Kust BM, Liem RS, et al. Expression of interleukin-1 beta in rat dorsal root ganglia. *J Neuroimmunol*. 2001;118(2):203-11.
96. Bent R, Moll L, Grabbe S, Bros M. Interleukin-1 Beta-A Friend or Foe in Malignancies? *Int J Mol Sci*. 2018;19(8).

97. He Y, Hara H, Nunez G. Mechanism and Regulation of NLRP3 Inflammasome Activation. *Trends Biochem Sci.* 2016;41(12):1012-21.
98. Schett G, Dayer JM, Manger B. Interleukin-1 function and role in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12(1):14-24.
99. 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.
100. Murayama R, Kobayashi M, Takeshita A, Yasui T, Yamamoto M. MAPKs, activator protein-1 and nuclear factor-kappaB mediate production of interleukin-1beta-stimulated cytokines, prostaglandin E(2) and MMP-1 in human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res.* 2011;46(5):568-75.
101. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol.* 2012;39(3):239-48.
102. Huynh NC, Everts V, Pavasant P, Ampornaramveth RS. Interleukin-1beta induces human cementoblasts to support osteoclastogenesis. *Int J Oral Sci.* 2017;9(12):e5.
103. Honig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Increased interleukin-1 beta (IL-1 beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 1989;24(6):362-7.
104. Dinarello CA. A clinical perspective of IL-1beta as the gatekeeper of inflammation. *Eur J Immunol.* 2011;41(5):1203-17.
105. Kaushik R, Yeltiwar RK, Pushpanshu K. Salivary interleukin-1beta levels in patients with chronic periodontitis before and after periodontal phase I therapy and healthy controls: a case-control study. *J Periodontol.* 2011;82(9):1353-9.
106. Zhu H, Lin X, Zheng P, Chen H. Inflammatory cytokine levels in patients with periodontitis and/or coronary heart disease. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(2):2214-20.
107. Cheng R, Wu Z, Li M, Shao M, Hu T. Interleukin-1beta is a potential therapeutic target for periodontitis: a narrative review. *Int J Oral Sci.* 2020;12(1):2.
108. Egwuagu CE, Yu CR, Sun L, Wang R. Interleukin 35: Critical regulator of immunity and lymphocyte-mediated diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015;26(5):587-93.
109. Trinchieri G, Pflanz S, Kastelein RA. The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new players in the regulation of T cell responses. *Immunity.* 2003;19(5):641-4.
110. Wang RX, Yu CR, Mahdi RM, Egwuagu CE. Novel IL27p28/IL12p40 cytokine suppressed experimental autoimmune uveitis by inhibiting autoreactive Th1/Th17 cells and promoting expansion of regulatory T cells. *J Biol Chem.* 2012;287(43):36012-21.
111. Yoshida H, Hunter CA. The immunobiology of interleukin-27. *Annu Rev Immunol.* 2015;33:417-43.
112. Collison LW, Chaturvedi V, Henderson AL, Giacomini PR, Guy C, Bankoti J, et al. IL-35-mediated induction of a potent regulatory T cell population. *Nat Immunol.* 2010;11(12):1093-101.
113. Hasegawa H, Mizoguchi I, Chiba Y, Ohashi M, Xu M, Yoshimoto T. Expanding Diversity in Molecular Structures and Functions of the IL-6/IL-12 Heterodimeric Cytokine Family. *Front Immunol.* 2016;7:479.
114. Wang X, Liu X, Zhang Y, Wang Z, Zhu G, Han G, et al. Interleukin (IL)-39 [IL-23p19/Epstein-Barr virus-induced 3 (Ebi3)] induces differentiation/expansion of

- neutrophils in lupus-prone mice. *Clinical & Experimental Immunology*. 2016;186(2):144-56.
115. Kaplan MJ. Neutrophils in the pathogenesis and manifestations of SLE. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(12):691-9.
116. Smith CK, Kaplan MJ. The role of neutrophils in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol*. 2015;27(5):448-53.
117. Lu Z, Xu K, Wang X, Li Y, Li M. Interleukin 39: a new member of interleukin 12 family. *Cent Eur J Immunol*. 2020;45(2):214-7.
118. Devergne O, Coulomb-L'Hermine A, Capel F, Moussa M, Capron F. Expression of Epstein-Barr virus-induced gene 3, an interleukin-12 p40-related molecule, throughout human pregnancy: involvement of syncytiotrophoblasts and extravillous trophoblasts. *Am J Pathol*. 2001;159(5):1763-76.
119. Ramnath D, Tunny K, Hohenhaus DM, Pitts CM, Bergot AS, Hogarth PM, et al. TLR3 drives IRF6-dependent IL-23p19 expression and p19/EBI3 heterodimer formation in keratinocytes. *Immunol Cell Biol*. 2015;93(9):771-9.
120. Lin Q, Fang D, Fang J, Ren X, Yang X, Wen F, et al. Impaired wound healing with defective expression of chemokines and recruitment of myeloid cells in TLR3-deficient mice. *J Immunol*. 2011;186(6):3710-7.
121. Decaillet F, Giannopoulou C, Cionca N, Almaghlouth A, Mombelli A. Microbial profiles of patients seeking treatment for periodontitis. Influence of origin, smoking and age? *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2012;122(3):198-204.
122. Huynh J, Scholz GM, Aw J, Kwa MQ, Achuthan A, Hamilton JA, et al. IRF6 Regulates the Expression of IL-36gamma by Human Oral Epithelial Cells in Response to *Porphyromonas gingivalis*. *J Immunol*. 2016;196(5):2230-8.
123. Scholz GM, Heath JE, Walsh KA, Reynolds EC. MEK-ERK signaling diametrically controls the stimulation of IL-23p19 and EBI3 expression in epithelial cells by IL-36gamma. *Immunol Cell Biol*. 2018;96(6):646-55.
124. Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci*. 2016;8(3):133-7.
125. Schenkels LC, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV. Biochemical composition of human saliva in relation to other mucosal fluids. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1995;6(2):161-75.
126. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J*. 1992;172(8):305-12.
127. Saxen L, Tenovuo J, Vilja P. Salivary defense mechanisms in juvenile periodontitis. *Acta Odontol Scand*. 1990;48(6):399-407.
128. Mandel ID. The functions of saliva. *J Dent Res*. 1987;66 Spec No:623-7.
129. van Nieuw Amerongen A, Veerman EC. [Role of saliva during mastication]. *Ned Tijdschr Tandheelkd*. 1995;102(11):441-2.
130. Greabu M, Battino M, Mohora M, Totan A, Didilescu A, Spinu T, et al. Saliva-a diagnostic window to the body, both in health and in disease. *J Med Life*. 2009;2(2):124-32.
131. Vila T, Rizk AM, Sultan AS, Jabra-Rizk MA. The power of saliva: Antimicrobial and beyond. *PLoS Pathog*. 2019;15(11):e1008058.
132. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem*. 2011;57(5):675-87.
133. Lima DP, Diniz DG, Moimaz SA, Sumida DH, Okamoto AC. Saliva: reflection of the body. *Int J Infect Dis*. 2010;14(3):e184-8.

134. Dinarello CA. Historical insights into cytokines. *Eur J Immunol.* 2007;37 Suppl 1:S34-45.
135. Gursoy UK, Kononen E, Pussinen PJ, Tervahartiala T, Hyvarinen K, Suominen AL, et al. Use of host- and bacteria-derived salivary markers in detection of periodontitis: a cumulative approach. *Dis Markers.* 2011;30(6):299-305.
136. Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2016;70(1):26-37.
137. Silness J, Loe H. Periodontal Disease in Pregnancy. Ii. Correlation between Oral Hygiene and Periodontal Condtion. *Acta Odontol Scand.* 1964;22:121-35.
138. Loe H, Silness J. Periodontal Disease in Pregnancy. I. Prevalence and Severity. *Acta Odontol Scand.* 1963;21:533-51.
139. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1993;694(1):72-7.
140. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J.* 2009;54 Suppl 1:S11-26.
141. Savage A, Eaton KA, Moles DR, Needleman I. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *J Clin Periodontol.* 2009;36(6):458-67.
142. Khader YS, Dauod AS, El-Qaderi SS, Alkafajei A, Batayha WQ. Periodontal status of diabetics compared with nondiabetics: a meta-analysis. *J Diabetes Complications.* 2006;20(1):59-68.
143. TK Madiba AB. Periodontal disease - risk factors and treatment options. *The South African Dental Journal.* 2018;73:571-5.
144. 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 Rep.* 2012;127(5):497-506.
145. Yakovlev E, Kalichman I, Pisanti S, Shoshan S, Barak V. Levels of cytokines and collagen type I and type III as a function of age in human gingivitis. *J Periodontol.* 1996;67(8):788-93.
146. Eke PI, Dye BA, Wei L, Thornton-Evans GO, Genco RJ, Cdc Periodontal Disease Surveillance workgroup: James Beck GDRP. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J Dent Res.* 2012;91(10):914-20.
147. Burt B, Research S, Therapy Committee of the American Academy of P. Position paper: epidemiology of periodontal diseases. *J Periodontol.* 2005;76(8):1406-19.
148. Borojevic T. Smoking and periodontal disease. *Mater Sociomed.* 2012;24(4):274-6.
149. Clarke NG, Shephard BC, Hirsch RS. The effects of intra-arterial epinephrine and nicotine on gingival circulation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1981;52(6):577-82.
150. Danielsen B, Manji F, Nagelkerke N, Fejerskov O, Baelum V. Effect of cigarette smoking on the transition dynamics in experimental gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1990;17(3):159-64.
151. Buduneli N, Larsson L, Biyikoglu B, Renaud DE, Bagaitkar J, Scott DA. Fatty acid profiles in smokers with chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2011;90(1):47-52.
152. Grossi SG, Genco RJ, Machtei EE, Ho AW, Koch G, Dunford R, et al. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol.* 1995;66(1):23-9.

153. Stoltenberg JL, Osborn JB, Pihlstrom BL, Herzberg MC, Aepli DM, Wolff LF, et al. Association between cigarette smoking, bacterial pathogens, and periodontal status. *J Periodontol.* 1993;64(12):1225-30.
154. Buduneli N, Biyikoglu B, Sherrabeh S, Lappin DF. Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegerin in smoker versus non-smoker chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 2008;35(10):846-52.
155. Salvi GE, Carollo-Bittel B, Lang NP. Effects of diabetes mellitus on periodontal and peri-implant conditions: update on associations and risks. *J Clin Periodontol.* 2008;35(8 Suppl):398-409.
156. Mealey BL, Oates TW, American Academy of P. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol.* 2006;77(8):1289-303.
157. Sima C, Rhourida K, Van Dyke TE, Gyurko R. Type 1 diabetes predisposes to enhanced gingival leukocyte margination and macromolecule extravasation in vivo. *J Periodontal Res.* 2010;45(6):748-56.
158. Geurs NC, Lewis CE, Jeffcoat MK. Osteoporosis and periodontal disease progression. *Periodontol 2000.* 2003;32:105-10.
159. Bobetsis YA, Graziani F, Gursoy M, Madianos PN. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes. *Periodontol 2000.* 2020;83(1):154-74.
160. Bhaskar SN, Jacoway JR. Pyogenic granuloma--clinical features, incidence, histology, and result of treatment: report of 242 cases. *J Oral Surg.* 1966;24(5):391-8.
161. 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. *J Periodontol.* 2013;84(1):84-93.
162. Troeltzsch M, Pache C, Probst FA, Troeltzsch M, Ehrenfeld M, Otto S. Antibiotic concentrations in saliva: a systematic review of the literature, with clinical implications for the treatment of sialadenitis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014;72(1):67-75.
163. Offenbacher S, Odle BM, Van Dyke TE. The use of crevicular fluid prostaglandin E2 levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodontal Res.* 1986;21(2):101-12.
164. Hancock EB, Cray RJ, O'Leary TJ. The relationship between gingival crevicular fluid and gingival inflammation. A clinical and histologic study. *J Periodontol.* 1979;50(1):13-9.
165. Sakellari D, Goodson JM, Kolokotronis A, Konstantinidis A. Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva. *J Clin Periodontol.* 2000;27(1):53-60.
166. Ozmeric N, Bal B, Balos K, Berker E, Bulut S. The correlation of gingival crevicular fluid interleukin-8 levels and periodontal status in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol.* 1998;69(11):1299-304.
167. Loe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J Periodontol.* 1967;38(6):Suppl:610-6.
168. Kingman A, Albandar JM. Methodological aspects of epidemiological studies of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2002;29:11-30.
169. Elashiry M, Meghil MM, Arce RM, Cutler CW. From manual periodontal probing to digital 3-D imaging to endoscopic capillaroscopy: Recent advances in periodontal disease diagnosis. *J Periodontal Res.* 2019;54(1):1-9.
170. Lang NP, Joss A, Tonetti MS. Monitoring disease during supportive periodontal treatment by bleeding on probing. *Periodontol 2000.* 1996;12:44-8.

171. Greenstein G. The role of bleeding upon probing in the diagnosis of periodontal disease. A literature review. *J Periodontol.* 1984;55(12):684-8.
172. Buduneli N, Kinane DF. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2011;38 Suppl 11:85-105.
173. Sanchez GA, Miozza VA, Delgado A, Busch L. Relationship between salivary mucin or amylase and the periodontal status. *Oral Dis.* 2013;19(6):585-91.
174. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;694:72-7.
175. Hoek GH, Brand HS, Veerman EC, Amerongen AV. Toothbrushing affects the protein composition of whole saliva. *Eur J Oral Sci.* 2002;110(6):480-1.
176. Hasan Gündoğar BÖ, Meral Uzunkaya, Süleyman Ziya Şenyurt, Kamile Erciyas. Effect of Peri-Implant Disease on Adropin Levels:



A Cross-Sectional Pilot Study. *European Journal of Therapeutics* 2020;26(1).

177. Shah K, Maghsoudlou P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *Br J Hosp Med (Lond).* 2016;77(7):C98-101.
178. Sakamoto S, Putalun W, Vimolmangkang S, Phoolcharoen W, Shoyama Y, Tanaka H, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. *J Nat Med.* 2018;72(1):32-42.
179. Jaedicke KM, Taylor JJ, Preshaw PM. Validation and quality control of ELISAs for the use with human saliva samples. *J Immunol Methods.* 2012;377(1-2):62-5.
180. 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.
181. Andrukhov O, Ulm C, Reischl H, Nguyen PQ, Matejka M, Rausch-Fan X. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. *J Periodontol.* 2011;82(6):885-92.
182. Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol.* 1991;62(8):504-9.
183. Buduneli N, Ozcaka O, Nalbantsoy A. Interleukin-33 levels in gingival crevicular fluid, saliva, or plasma do not differentiate chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2012;83(3):362-8.
184. Fine DH, Markowitz K, Furgang D, Fairlie K, Ferrandiz J, Nasri C, et al. Macrophage inflammatory protein-1alpha: a salivary biomarker of bone loss in a longitudinal cohort study of children at risk for aggressive periodontal disease? *J Periodontol.* 2009;80(1):106-13.
185. Gursoy UK, Kononen E, Uitto VJ, Pussinen PJ, Hyvarinen K, Suominen-Taipale L, et al. Salivary interleukin-1beta concentration and the presence of multiple pathogens in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2009;36(11):922-7.
186. Kinney JS, Morelli T, Braun T, Ramseier CA, Herr AE, Sugai JV, et al. Saliva/pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. *J Dent Res.* 2011;90(6):752-8.
187. Mirrieles J, Crofford LJ, Lin Y, Kryscio RJ, Dawson DR, 3rd, Ebersole JL, et al. Rheumatoid arthritis and salivary biomarkers of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2010;37(12):1068-74.
188. Scannapieco FA, Ng P, Hovey K, Hausmann E, Hutson A, Wactawski-Wende J. Salivary biomarkers associated with alveolar bone loss. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1098:496-7.

189. Tobon-Arroyave SI, Jaramillo-Gonzalez PE, Isaza-Guzman DM. Correlation between salivary IL-1beta levels and periodontal clinical status. *Arch Oral Biol.* 2008;53(4):346-52.
190. Sexton WM, Lin Y, Kryscio RJ, Dawson DR, 3rd, Ebersole JL, Miller CS. Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. *J Clin Periodontol.* 2011;38(5):434-41.
191. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, et al. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *J Periodontol.* 2009;80(3):436-46.
192. Hasegawa H, Mizoguchi I, Chiba Y, Ohashi M, Xu M, Yoshimoto T. Expanding diversity in molecular structures and functions of the IL-6/IL-12 heterodimeric cytokine family. *Frontiers in immunology.* 2016;7:479.
193. Bridgewood C, Alase A, Watad A, Wittmann M, Cuthbert R, McGonagle D. The IL-23p19/EBI3 heterodimeric cytokine termed IL-39 remains a theoretical cytokine in man. *Inflammation Research.* 2019;68(6):423-6.
194. Manning AA, Zhao L, Zhu Z, Xiao H, Redington CG, Ding VA, et al. IL-39 acts as a friend to pancreatic cancer. *Medical Oncology.* 2019;36(1):12.
195. Detry S, Składanowska K, Vuylsteke M, Savvides SN, Bloch Y. Revisiting the combinatorial potential of cytokine subunits in the IL-12 family. *Biochemical pharmacology.* 2019;165:240-8.
196. Yang M-G, Tian S, Zhang Q, Han J, Liu C, Zhou Y, et al. Elevated serum interleukin-39 levels in patients with neuromyelitis optica spectrum disorders correlated with disease severity. *Multiple Sclerosis and Related Disorders.* 2020;46:102430.
197. Wang X, Zhang Y, Wang Z, Liu X, Zhu G, Han G, et al. Anti-IL-39 (IL-23p19/Ebi3) polyclonal antibodies ameliorate autoimmune symptoms in lupus-like mice. *Molecular Medicine Reports.* 2018;17(1):1660-6.

## EKLER

### EK-1 Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu

|   |  |
|---|--|
|    | <b>T.C.<br/>AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ<br/>TIP FAKÜLTESİ<br/>Klinik Araştırmalar Etik Kurulu</b> |
| <b>Sayı :</b> 70904504/49   | 22.10.2019   |
| <b>Konu :</b>   |  |
| <b>Sayın</b><br>Doç.Dr. Mehmet ÖZGÖZ<br>Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi<br>Öğretim Üyesi   |  |
| <p>Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz, "Periodontal Açıdan Sağlıklı ve Periodontal Hastalığa Sahip Bireylerde Tükürükteki, İnterlökün-1 Beta (iL-1b) ve İnterlökün-39 (iL-39) Düzeylerinin Değerlendirilmesi" adlı çalışmaya ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.</p> <p>Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.</p> |  |
| <p style="text-align: right;"><br/>Prof. Dr. Mustafa Kemal ÖZGÖZ<br/>Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı</p>   |  |
| <b>Eki:</b> Etik Kurul Kararı   |  |
| <hr/>   |  |
| Adres   | : Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 1. Kat ANTALYA                              |
| Tel   | : (242)249 69 54   |
| Faks  | : (242) 249 69 03  |
| e-posta   | : etik@akdeniz.edu.tr  |

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU  
2020

**KARAR**

|   |   |  |
|---|---|--|
| <b>ETİK KURUL<br/>BİLGİLERİ</b>               | ETİK KURULUN ADI  | Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu                                       |
|   | AÇIK ADRESİ:  | Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası A Blok<br>1. Kat No: A1-05 Kampüs /ANTALYA |
|   | TELEFON   |  |
|   | FAKS  |  |
|   | E-POSTA   |  |
|   | ETİK KURUL KODU   | 2012-KAEK-20   |
| <b>PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ<br/>UNVANI/ADI/SOYADI</b> | Doç.Dr. Mehmet ÖZGÖZ  |  |
| <b>ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI</b>                  | Periodontal Açıdan Sağlıklı ve Periodontal Hastalığa Sahip Bireylerde Tükürükteki,<br>İnterlökin-1 Beta (iL-1b) ve İnterlökin-39 (iL-39) Düzeylerinin Değerlendirilmesi |  |
| <b>KARAR<br/>BİLGİLERİ</b>                    | Karar No: KAEK- 56  | Tarih: 08.01.2020  |
|   | Yukarıda bilgileri verilen çalışmanın yapılmasında bilimsel ve etik açısından sakınca olmasına oy birliği ile karar verilmiştir.  |  |

## EK-2 Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu



6

### ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Katılımcı / Gönüllünün Protokol Numarası:

#### 1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

##### a. Araştırmanın Adı:

Periodontal açıdan sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerde tükürükteki, İnterlökin-1Beta (iL-1b) ve İnterlökin-39 (iL-39) düzeylerinin değerlendirilmesi.

##### b. Araştırmanın İçeriği:

Çalışmaya katılan hastalara, kliniğimizde uygulanan rutin muayene yöntemleri uygulanacaktır. Daha sonra bireylerden tükürük örnekleri toplanacaktır. Toplanan örnekler laboratuvar ortamına aktarılarak değerlendirilecektir.

##### c. Araştırmanın Amacı:

İnterlökin-39 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 metot 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 hastalardan tükürük örnekleri toplanacaktır. 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.



6

#### 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: Mehmet Can Kılınçaslan      Telefon: +90312 311 0000

#### 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 Mehmet Özgöz tarafından karşılanacağı bana bildirildi.

#### 6. Araştırma Giderleri:

Araştırma kapsamındaki bütün işlemler için benden ya da bağlı bulunduğum 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.

#### 8. 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.



6

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

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: Mehmet Can Kılınçaslan

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:

Yaş:

Telefon:

Teşhis:

Sistemik hastalık:

Tedavi süresi:

Aile hikayesi:

Sigara:

Periodontal tedavi:

Fırçalama:

Arayüz temizliği:

| 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  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |