

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

PERİODONTAL AÇIDAN SAĞLIKLI VE PERİODONTAL HASTALIĞA  
SAHİP BİREYLERDE TÜKÜRÜK ÖRNEKLERİNDE IL-40, IL-1 $\beta$  VE MMP-  
8 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Fatma KÖKSEL BABUN

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Nezahat Arzu KAYAR

2023-ANTALYA

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

**PERİODONTAL AÇIDAN SAĞLIKLİ VE PERİODONTAL HASTALIĞA**  
**SAHİP BİREYLERDE TÜKÜRÜK ÖRNEKLERİNDE IL-40, IL-1 $\beta$  VE MMP-**  
**8 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Fatma KÖKSEL BABUN**

**DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Nezahat Arzu KAYAR**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi  
tarafından TDK-2021-5681proje numarası ile desteklenmiştir.

**2023-ANTALYA**

## ONAY SAYFASI

Fatma KÖKSEL BABUN tarafından sunulan bu çalışma jürimiz tarafından **oy birliği/oy çokluğu** ile Periodontoloji Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir. .../...../.....

**İmza**

**Üye** : Prof. Dr. Nilgöl Özlem ALPTEKİN  
Başkent Üniversitesi

**Üye** : Prof. Dr. Kemal ÜSTÜN  
Akdeniz Üniversitesi

**Üye** : Doç. Dr. 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.

Aday

**Fatma KÖKSEL BABUN**

İmza

Tez Danışmanı

**Doç. Dr. Nezahat Arzu KAYAR**

İmza

## TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda bilgi ve tecrübelerini büyük bir özveri ile paylaşan, her durumda yanımda olan, kendimi öğrencisi olmaktan dolayı şanslı hissettiğim ve benim için danışman olmaktan çok öte yeri olan kıymetli hocam Doç. Dr. Nezahat Arzu KAYAR'a,

Bilgi, görüş ve tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen, uzmanlık eğitimim boyunca her türlü sorunda yanımda olan, akademik ve sosyal hayatta desteğini her zaman hissettiğim sevgili hocam ve anabilim dalı başkanım Sayın Prof. Dr. Kemal ÜSTÜN'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, mesleki eğitimime katkılarını unutmayacağım değerli hocalarım Doç. Dr. Mükerrrem HATIPOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Özlem DALTABAN ve Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ'e,

Jürimde yer almasından onur duyduğum saygıdeğer hocam Prof. Dr. Nilgün Özlem ALPTEKİN'e,

Tez sürecimde yardımını ve desteğini esirgemeyen, tanımaktan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma,

Periodontoloji anabilim dalı'nın güler yüzlü ve yardımsever destek personeli ve klinik hemşirelerimize,

Tez sürecim ve hayatım boyunca daima yanımda olan, her daim desteğini hissettiğim, hayattaki en büyük şansım eşim Hüseyin BABUN ve hayatımıza katılmasıyla bize ışık olan, yaşam enerjimiz, hayatımızın neşesi biricik oğlumuz Kemal BABUN'a,

Bugünlere gelmemde maddi-manevi desteklerini asla esirgemeyen her daim yanımda olan ailem; annem Güler KÖKSEL, babam Mehmet KÖKSEL ve canım kardeşlerim Filiz KÖKSEL ve Oğuzhan KÖKSEL'e sonsuz teşekkürler.

## ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, periodontal açıdan sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerde tükürük örneklerindeki, İnterlökin-40 (IL-40), İnterlökin-1 Beta (IL-1 $\beta$ ) ve matriks metalloproteinaz (MMP)-8 düzeylerinin belirlenmesi, gruplar arası karşılaştırılması ve periodontal klinik parametrelerle bu sitokinlerin ilişkisinin değerlendirilmesidir.

**Yöntem:** Tükürük örnekleri sistemik olarak sağlıklı ve sigara içmeyen 120 bireyden (40 sağlıklı [S], 40 gingivitis [G], 40 periodontitis[P]) toplandı. Bireylerin plak indeksi (PI), gingival indeksi (GI), sondlamada cep derinliği (SCD), klinik ataşman kaybı (KAK) ve sondlamada kanama (SK) klinik parametreleri ölçülmüştür. Tüm bireylerden uyarılmamış tükürük örnekleri toplanmıştır. Toplanan tükürük örneklerindeki IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 düzeyleri enzim bağılı immün absorban yöntem (ELİSA) ile tespit edilmiştir. Elde edilen veriler SPSS 28.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir.

**Bulgular:** Tükürük IL-40 seviyeleri istatistiksel açıdan G grubunda S grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksek saptanırken, diğer gruplar arasında anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık görülmemiştir. Tükürük IL-40 düzeyleri ile SCD, KAK, SK, IL-1 $\beta$  MMP-8 değeri arasında anlamlı ( $p<0.05$ ) pozitif korelasyon saptanmıştır. IL-1 $\beta$  seviyeleri P grubunda, S ve G grubundan, G grubu da S grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksek bulunmuştur. IL-1 $\beta$  ve MMP-8 seviyeleri ile klinik parametreler arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Tükürük MMP-8 düzeyleri; P grubunda S grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak yüksek olduğu gözlenmesine rağmen G grubunda S ve P grubundan anlamlı ( $p>0.05$ ) olarak fark bulunmamıştır.

**Sonuç:** Çalışmamıza göre, IL-40 ve IL-1 $\beta$ 'nın tükürük biyobelirteci olarak gingivitisin teşhisinde, MMP-8 ve IL-1 $\beta$ 'nin ise periodontitisin ayırt edilmesinde etkili olabileceği sonucuna varabiliriz. IL-40'ın da IL-1 $\beta$  ve MMP-8 gibi periodontal hastalık patogenezinde rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. Güncel bir sitokin olan ve henüz hakkında çok fazla bilimsel veri bulunmayan IL-40'ın periodontal hastalık patogenezindeki olası rolünün aydınlatılması için geniş ölçekli kohort çalışmalarına ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** periodontitis, tükürük, IL-40, IL-1 $\beta$ , MMP-8.

## ABSTRACT

**Objective:** The objective of this study was to determine the levels of interleukin-40 (IL-40), interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), and matrix metalloproteinase (MMP)-8 in saliva samples of individuals with periodontally healthy and periodontally diseased conditions, to compare the levels between groups, and to evaluate the relationship between these cytokines and periodontal clinical parameters.

**Methods:** Saliva samples were collected from 120 systemically healthy, non-smoking individuals (40 healthy [S], 40 with gingivitis [G], and 40 with periodontitis [P]). Clinical parameters, including plaque index (PI), gingival index (GI), pocket depth at probing (PD), clinical attachment loss (CAL), and bleeding on probing (BOP), were measured. Unstimulated saliva samples were collected from all individuals, and IL-40, IL-1 $\beta$ , and MMP-8 levels in the collected saliva samples were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The obtained data were analyzed using SPSS 28.0 software.

**Results:** Salivary IL-40 levels were significantly higher in the G group than in the S group ( $p < 0.05$ ), while no significant difference was observed between the other groups ( $p > 0.05$ ). There was a significant positive correlation between salivary IL-40 levels and PD, CAL, BOP, and IL-1 $\beta$  and MMP-8 values ( $p < 0.05$ ). IL-1 $\beta$  levels were significantly higher in the P group than in the S and G groups ( $p < 0.05$ ) and in the G group than in the S group ( $p < 0.05$ ). A significant correlation was observed between IL-1 $\beta$  and MMP-8 levels and clinical parameters ( $p < 0.05$ ). Salivary MMP-8 levels were significantly higher in the P group than in the S group ( $p < 0.05$ ), while no significant difference was observed between the S and P groups in the G group ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** Based on our study, we concluded that IL-40 and IL-1 $\beta$  may serve as effective salivary biomarkers for the diagnosis of gingivitis, while MMP-8 and IL-1 $\beta$  may be effective for the differentiation of periodontitis. We also hypothesize that IL-40 may play a role in the pathogenesis of periodontal disease, similar to IL-1 $\beta$  and MMP-8, and further large-scale cohort studies are needed to elucidate its possible role, as there is currently limited scientific data on this cytokine.

**e.Keywords:** periodontitis, saliva, IL-40, IL-1 $\beta$ , MMP-8.

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>I</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>II</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>III</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b> .....	<b>VI</b>
<b>ŞEKİLLER</b> .....	<b>VIII</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1. Periodontal hastalıklar.....	4
2.2. Periodontal ve Peri-İmplant Hastalıkların Sınıflandırılması.....	5
2.2.1. Periodontal ve gingival sağlık.....	7
2.2.2. Gingivitis.....	8
2.2.3. Periodontitis .....	9
2.3. Periodontal patogenez .....	14
2.4. Sitokinler.....	18
2.4.1. İnterlökin 1 $\beta$ .....	19
2.4.2. İnterlökin 40 .....	21
2.5. Matris Metalloproteinazlar.....	22
2.5.1. MMP-8.....	23
2.6. Periodontal Hastalığın Teşhisinde Tükürük.....	23

<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>26</b>
3.1. Hasta Seçimi .....	26
3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	27
3.1.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri.....	27
3.2. Araştırmada Kullanılan Klinik İndeks ve Ölçümler .....	28
3.2.1. Plak İndeksi (PI Silness & Loe, 1964)(83) .....	28
3.2.2. Sondlamada Cep Derinliği (SCD).....	29
3.2.3. Klinik Ataşman Kaybı (KAK) .....	29
3.2.4. Gingival İndeks (Gİ) (Loe & Silness, 1963).....	29
3.2.5. Sondlamada Kanama.....	29
3.3. Biyokimyasal Analiz için Örneklerin Elde Edilmesi.....	30
3.3.1. Tükürük Örneklerinin Toplanması.....	30
3.3.2. Tükürük Örneklerinin Hazırlanması .....	32
3.4. Tükürük Örneklerinin Biyokimyasal Analizi .....	32
3.4.1. Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$ ve MMP-8 Seviyelerinin Belirlenmesi .....	32
3.5. İstatistiksel Analiz.....	34
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>36</b>
4.1. Demografik Bulgular .....	36
4.2. Gruplar Arası Klinik Parametlerin Karşılaştırılması .....	37
4.3. Gruplar Arası Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$ ve MMP-8 Seviyelerinin Karşılaştırılması .....	41
4.3.1. ROC Analizi.....	43

4.4. Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$ ve MMP-8 Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler .....	45
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>47</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>56</b>
<b>KAYNAKLAR: .....</b>	<b>57</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>68</b>
EK-1 Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu .....	68
EK-2 Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu .....	70
EK-3 Hasta Anamnez ve Periodontal İndeks Formu .....	73

## SİMGELER ve KISALTMALAR

AUC	Eğri altında kalan alan
DOS	Dişeti Oluğu Sıvısı
ELİSA	Enzim Bağlı İmmün Absorbans Yöntem
G	Gingivitis
Gİ	Gingival İndeks
Hb	Hemoglobin
Ig	İmmunglobulin
IL	İnterlökin
KAK	Klinik Ataçman Kaybı
kDa	Kilodalton
LPS	Lipopolisakkarit
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MMP	Matriks metalloproteinaz
NK	Doğal öldürücü Hücre
ORF	Olgu Rapor Formu
P	Periodontitis
pg	Pikogram
PGE2	Prostaglandin E2
Pİ	Plak İndeksi
PMNL	Polimorfonükleer Lökositler
R	Korelasyon katsayısı
ROC	Receiver Operating Characteristic
S	Sağlıklı
SCD	Sondlanabilir Cep Derinliği
SK	Sondlamada Kanama

sn	Saniye
TGF	Transforming Growth Factor “Dönüştürücü Büyüme Faktörü”
Th	T- helper “Yardımcı T Hücresi”
TIMP	Tissue Inhibitors of Metalloproteinases “MMP Doku İnhibitörleri”
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
$\mu$ l	Mikrolitre



## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Periodontal hastalıkta patojenik süreçlere şematik genel bakış [47]. (A) Proenflamatuvar sitokin kaskadının güçlendirilmesinde yer alan ve spesifik bağışıklık hücrelerinin toplanmasına, aktivasyonuna ve farklılaşmasına yardımcı olan sitokin salgılarının ilk dalgası gösterilmektedir. (B) Ek olarak, belirli bir lenfosit alt kümesinin farklılaşmasıyla yakından ilişkili bir grup sitokin, mikrobiyom tarafından uyarıldıktan sonra mononükleer fagositler ve antijen sunan hücreler tarafından salgılanır. (C) Bu hücrelerin her biri, işlev görebilecek ve sonunda dokunun tahrip olmasına yol açabilecek belirli bir sitokin modeli sunar.

Şekil 2.2. Periodontitis patogeneğinde konak-mikrop etkileşimlerini gösteren klasik Page & Kornman modeli [31] PMNL: polimorf nükleer lökosit, LPS: Lipo poli sakkarit, MMP: Matriks metallo proteinaz.

Şekil 2.3. IL-30 ila IL-40'ın ve bunların hangi sitokin üst ailelerine ait olduklarının (veya olmadıklarının) grafik gösterimi [64].

Şekil 3.1. Williams periodontal sond.

Şekil 3.2. Sırası ile: Tükürük örneklerinin depolanması, tükürük örneklerinin alınması için kullanılan falkon tüp, pastör pipeti ve eppendorf tüpü

Şekil 3.3. Tükürük örneklerinin santrifüj edildiği santrifüj cihazı

Şekil 3.6. Durulama solüsyonunun eklenmesi ile rengin maviden sarıya dönmesi

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

Şekil 4.1. Çalışma gruplarına göre yaş dağılımı

Şekil 4.2. Çalışma gruplarına göre cinsiyet dağılımı

Şekil 4.3. Çalışma gruplarına göre PI ortalama değerler grafiği

Şekil 4.4. Çalışma gruplarına göre GI ortalama değerler grafiği

Şekil 4.5. Çalışma gruplarına göre SCD ortalama değerler grafiği

Şekil 4.6. Çalışma gruplarına göre KAK ortalama değerler grafiği

Şekil 4.7. Çalışma gruplarına göre SK ortalama değerler grafiği

Şekil 4.8. Tükürük IL-40 düzeylerinin çalışma grupları arasında karşılaştırılması

Şekil 4.9. Tükürük IL-1 $\beta$  düzeylerinin çalışma grupları arasında karşılaştırılması

Şekil 4.10. Tükürük MMP-8 düzeylerinin çalışma grupları arasında karşılaştırılması

Şekil 4.11. IL-40 ve IL-1 $\beta$  için ROC eğrisi

Şekil 4.12. IL-1 $\beta$  ve MMP-8 için ROC eğrisi

Şekil 4.13. IL-1 $\beta$  için ROC eğrisi

## TABLULAR

Tablo 2.1. Periodontitis evreleri

Tablo 2.2. Periodontitis dereceleri

Tablo 4.2. Klinik Parametrelerin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması

Tablo 4.3. Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 Seviyelerinin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması

Tablo 4.4. G grubunu S grubundan ayırmada IL-40 ve IL-1 $\beta$ 'nin tanısal etkinliği için ROC analizi ile elde edilen veriler

Tablo 4.5. P grubunu S grubundan ayırmada IL-1 $\beta$  ve MMP-8'in tanısal etkinliği için ROC analizi ile elde edilen veriler

Tablo 4.6. P grubunu G grubundan ayırmada IL-1 $\beta$ 'nin tanısal etkinliği için ROC analizi ile elde edilen veriler

Tablo 4.7. Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 seviyeleri ve klinik parametreler arasındaki korelasyonlar

## 1. GİRİŞ

Periodontal hastalık, belirli Gram-negatif bakteri türleri ile konakçı bağışıklık yanıtının bileşenleri arasındaki etkileşimin neden olduğu yaygın enflamatuvar bir hastalıktır (1). Kronik periodontal enfeksiyonlar, diş ile periodontal cep arasındaki arayüzde sayısız metabolik yan ürünün, yıkıcı hücresel enzimin ve diğer doku yıkım araçlarının salınımını tetikler (2). Sonuç olarak, periodonsiyumun normal histolojik mimarisi bozulur ve kalıcı enflamasyon mineralize ve mineralize olmayan dokuların geri dönüşümsüz kaybıyla ilişkilendirilir (1).

Periodontitis için yaygın semptomlar dişeti kanaması, dişlerin mobilitesi, ağrı ve hassasiyettir. Ancak periodontal hastalık hem hastalar hem de diş hekimleri tarafından, hastalığın ağrısız ve asemptomatik olduğu remisyon dönemlerinde yıllarca fark edilmeyebilir. Kronik periodontitis ciddi bir ağız rahatsızlığına neden olmadan ilerleyebilir; bu nedenle, bireyler genellikle periodontal doku önemli ölçüde hasar gördükten sonra profesyonel bakım ararlar. Ayrıca epidemiyolojik çalışmalar, yetişkin popülasyonun %15-20'sinin ilerlemiş kronik periodontitise sahip olduğunu ve periodontitisin diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve inme gibi sistemik hastalıklara yatkınlıkla ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (3, 4). Bu nedenle, etkili bir tedavi için bu hastalığın ilk aşamalarında teşhis edilmesine ihtiyaç vardır (5). Günümüzde, periodontitis tanısı genellikle ve SCD, SK, KAK'nin klinik değerlendirmesi ve radyolojik görüntüleme yoluyla konulmaktadır (6).

Periodontal hastalık biyobelirteçlerini tespit etmek için kullanılan biyolojik ortamlar arasında; dişeti oluğu sıvısı (DOS), tükürük, serum, subgingival plak ve doku biyopsileri yer almaktadır (7). Erişimi kolay tükürük, periodontal hastalığın lokal ve sistemik olarak üretilmiş araçlarını içerir ve bu nedenle periodontal hastalık durumu ve riskinin değerlendirilmesi için önemli bir potansiyel sunar (8). Tükürük, önemli biyolojik fonksiyonlara sahip, çok çeşitli ve benzersiz proteinler ve enzimler içerir. Tükürükte IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) ve MMP-8 ve MMP-9 gibi ağız hastalıklarıyla ilişkili birçok enflamatuvar biyobelirteç tespit edilmiştir (9, 10). Ayrıca, tükürük biyobelirteçleri periodontitisi tespit etmek, periodontal hastalığın farklı biyolojik evrelerini göstermek ve çürük riskini değerlendirmek için kullanılmıştır (11, 12).

Tükürükte bakılabilecek sitokinler arasında daha önce çalışılmamış IL-40 bulunmaktadır. B lenfositler ile ilişkili bir sitokin olan IL-40, C17orf99 geni tarafından kodlanan, yakın zamanda keşfedilmiş bir sitokindir. 2017'deki keşfi göz önüne alındığında, IL-40 ve bunun hastalık süreçlerindeki etkileri hakkındaki literatür sınırlıdır. Kodlanmış proteinin karakterizasyonu, C17orf99 genini, sağlıklı benzerlerinde bulunmayan bir otoimmün hepatit otoantijeni olarak tanımlamışlar ve otoimmün süreçlerde rol oynadığına dair ilk kanıtı sunmuşlardır (13). Daha yakın zamanlarda, bir insan hücresi akciğer enflamasyon modelinin anti-enflamatuvar tedavisinden sonra gende 'down regülasyon' olduğu bulunmuştur, bu da proenflamatuvar bir sitokin olarak potansiyel bir role sahip olabileceğini işaret etmektedir (14).

Interlökin-1 (IL-1), geniş bir yelpazede enflamatuvar, metabolik, fizyolojik, hematopoetik ve immünolojik özelliklere sahip iki polipeptit (IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ ) için kullanılan bir terimdir (15). IL-1 $\beta$ , özellikle makrofaj, doğal öldürücü hücreler (Natural Killer, NK), monositler ve nötrofiller tarafından eksprese edilen proenflamatuvar bir sitokindir, ancak aynı zamanda endotelial hücreler, keratinositler, sinoviyal hücreler, osteoblastlar, glial hücreler tarafından da üretilir. IL-1 $\beta$ 'nın ana etkileri şunlardır: (i) Endotel hücre aktivasyonu, (ii) Nötrofil diapedez indüksiyonu ve (iii) Lenfositlerin (T ve B) sitokin sentezinin arttırılmasıdır (16).

MMP'ler hem doku yıkımından hem de yeniden şekillenmeden sorumlu konak proteinazlardır (17, 18). İlerleyen periodontal yıkım sırasında, dişeti ve periodontal ligament kolajenleri konak hücre kaynaklı interstisyel kollajenazlar tarafından parçalanır. Alveolar kemik matriksinde bulunan tip I, II ve III kolajenlerin üçlü sarmal yapılarını parçalayabilen hayati bir interstisyel kollajenaz, kolajenaz-2'dir. MMP-8 olarak da adlandırılan kolajenaz-2, kemik iliğindeki polimorf nükleer lökositlerin olgunlaşması sırasında salınır (8).

Artan periodontal yıkımla ilişkili en önemli çevresel faktör olarak sigara içmeyi destekleyen önemli kanıtlar vardır. Periodontitis riskindeki bu tür bir artış, tütünün polimorf nükleer lökositlerin kemotaktik ve fagositik fonksiyonlarını sınırlayarak, antikor üretimini azaltarak ve periodontal dokuyu enfeksiyonlara yatkın hale getirerek konakçı bağışıklık sistemi üzerindeki etkisinden kaynaklanıyor olabilir. Sigara içenlerde periodontal hastalığın daha yıkıcı doğasının tükürük IL-1 $\beta$  ve MMP-

8 düzeyinde artışa yol açtığı bilinmektedir (19, 20). Sigaranın periodontal dokularda sitokin ekspresyonunda genel bir aşağı regülasyona neden olduğunu ve dolayısıyla periodontitis patogenezi sırasında immünosupresan bir etki yaratabileceğini gösteren çalışmalar da vardır (21-23). Öyleyse, sigara içmek sitokin ve enzim seviyelerini etkileyebilir, bu yüzden çalışmamıza sigara içen bireyler dahil edilmemiştir.

Dişlerin desteği olan bağ dokusu ve alveolar kemik, periodontal sağlıkta oldukça önemli bir yere sahiptir. Terapötik ve koruyucu yaklaşımlar da periodontal bağ dokusu ve kemik yıkımına yönelik olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yüzden periodontal hastalıkların tedavisi için yıkım mekanizmalarının anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Günümüzde periodontal hastalığın enfeksiyöz karakteri ağırlık kazanmıştır. Konak faktörü açısından değerlendirildiğinde enflamatuvar süreçte düzenleyici rol oynayan sitokin ve kemokinlerin hastalığın patogenezindeki rollerinin keşfi, periodontal hastalığın tedavisinde önem taşımaktadır. Bazı tükürük biyobelirteçleri, potansiyel olarak kombinasyon halinde veya tek başına periodontal hastalığın teşhisi için yararlı olabilir (24). Tükürükte IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 düzeylerinin periodontal açıdan sağlıklı ve hastalıklı bireylerde anlamlı olarak bir fark göstermesinin yanı sıra bu sitokinlerin birbirleri ile korelasyonunun tespiti; periodontal hastalıkların tanısında, patofizyolojisinin incelenmesinde ve tedavisinde önemli bir faktör olarak değerlendirilebilir. Literatürde oral kavitede IL-40 düzeyinin belirlendiği ve ayrıca bu sitokinlerin IL-1 $\beta$  ve MMP-8 seviyeleri ile ilişkisini inceleyen başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Periodontal hastalıkların etiyopatogenezinin aydınlatılması ve araştırılması hastalığın tedavisinde yeni yöntem ve tekniklerin geliştirilebilmesi için şarttır. IL-40'ın proenflamatuvar bir sitokin olduğu düşünüldüğü için periodontitis ve gingivitis hastalarında IL-40 düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek olacağı öngörülmektedir. Tükürükte IL-1 $\beta$ , MMP-8 düzeylerinin periodontal hastalıklarda rolü olduğu ve periodontal hastalıktan etkilenmiş bölgelerde konsantrasyonunun arttığı bilinmektedir (25, 26). Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı, periodontal hastalıklarda tükürük IL-40 seviyelerini tespit ederek, tükürük IL-1 $\beta$ , MMP-8 ve klinik periodontal parametrelerle karşılaştırılması sonucunda IL-40'ın periodontal hastalıkların patogenezindeki rolünün belirlenmesinin yanı sıra ilgili sitokinler ile enzimlerin tek başına ya da kombinasyonlarının periodontal hastalığın teşhisine katkısının araştırılmasıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Periodontal hastalıklar

Periodontitis, dişi destekleyen dokuların geri dönüşümü olmaksızın yıkımı ile karakterize, biyofilm kaynaklı kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Dişte biyofilm birikimi, diş çevresindeki dokularda enflamasyonu başlatmak için gerekliyen, periodontal dokularda yıkım ise disbiyotik mikro biyom ile şiddetlenen konakçı enflamatuvar yanıt arasındaki karşılıklı olarak güçlendirilmiş etkileşimlerin bir sonucudur (27).

Periodontal hastalığın temel nedeni mikrobiyal dental plak ve ağız boşluğunda bulunan bakterilerdir (28). Mikrobiyal dental plak, diş yüzeyinde oluşan ve birçok bakteriyi bir arada tutan bir biyofilmdir. Biyofilm, şekilli bir ekstraselüler matriks ya da glikokaliks içinde iyi organize olmuş bakteriyel hücre mikro kolonilerinden oluşmaktadır. Bu bakteri türleri, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, spiroketler, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium notadum*, *Prevotella nigrescens*, *Peptostreptococcus nigra*, *Fusobacterium nucleatum* ve *Eikenella corrodens* gibi çoğunlukla gram-negatif anaerop sınıfına aittirler (29, 30).

Yapılan çalışmalarda, bakteri ürünlerinin, konağa ait immüno-enflamatuvar mekanizmaları aktive ettiği görülmüştür. Böylece uyarılan konak cevabı, dişeti cebi içerisindeki mikroorganizmaları azaltmak amacıyla polimorfonükleer lökosit ve antikor aktivasyonunu sağlamaktadır. Bunun yanında, proenflamatuvar sitokinler, prostaglandinler ve MMP'ler konak tarafından aktive edilerek enflamatuvar sürece katılmaktadır. Bu aktivasyon sonucunda, klinik belirtiler gözlenmekte, bağ dokusu ve kemikte harabiyet meydana gelmektedir. Her hastada yıkım miktarının aynı olmaması, hastalığın seyrinin bireyden bireye farklılık göstermesi konak cevabındaki farklılıklara, değişen bakteriyel kompozisyona ve virülans faktörlerine bağlıdır. Bu sebeple farklı bireylerde aynı uyarılara karşı farklı klinik durumlar ortaya çıkabilmektedir (31).

## 2.2. Periodontal ve Peri-İmplant Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal ve peri-implant hastalıkları ve durumları için bir sınıflandırma şeması, klinisyenlerin hastalara doğru bir şekilde teşhis koymaları ve hastalığı tedavi etmelerini sağlamasının yanı sıra bilim insanlarının hastalıkların etiyolojisinin, patogenezinin ve doğal seyrinin araştırılabilmesi için gereklidir(32).

1999 çalıştayından bu yana nüfus çalışmaları, temel bilimsel araştırmaları, çevresel ve sistemik risk faktörlerini değerlendiren ileriye dönük çalışmalardan elde edilen kanıtlardan önemli yeni bilgiler ortaya çıkmıştır. Bu kanıtların analizi 2017 çalıştayında, periodontitis için yeni bir sınıflandırmanın geliştirilmesine neden olmuştur (33).

Çalıştay, patofizyoloji hakkındaki bilgilerle tutarlı olarak üç periodontitis formunun tanımlanabileceğini kabul etmiştir: nekrotizan periodontitis, sistemik hastalığın bir belirtisi olarak periodontitis ve daha önce “kronik” veya “agresif” olarak bilinen hastalık formlarını tek bir kategori altında gruplandırıldığı periodontitis (33, 34).

Sınıflandırmanın anlatıldığı derlemede, periodontitis için evreleme ve derecelendirme sistemine dayanan, zaman içinde yeni bilgiler ortaya çıktıkça uyarlanabilen çok boyutlu bir sınıflandırma çerçevesi üzerinde çalışılmıştır (32).

Bu sınıflandırmaya göre periodontal hastalıklar;

### A) Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar ve Durumlar

#### 1. Periodontal ve Gingival Sağlık

- Periodonsiyumun etkilenmediği klinik olarak gingival sağlık durumu
- Periodonsiyumun etkilendiği/azaldığı klinik olarak gingival sağlık durumu
  - Stabil periodontitis hastası
  - Periodontitis olmayan hasta

#### 2. Gingivitis: Dental Biyofilme Bağlı Gelişen

- Yalnızca dental biyofilme ilişkili gingivitis
- Sistemik veya lokal faktörlerle ilişkili gingivitis
- İlaç kullanımına bağlı dişeti büyümeleri

### 3. Gingival Hastalıklar: Dental Biyofilme Bağlı Gelişmeyen

- Genetik veya gelişimsel bozukluklar
- Spesifik enfeksiyonlar
- İnflamatuvar ve immün koşullar
- Reaktif süreçler
- Neoplazmlar
- Endokrin, beslenme ve metabolik hastalıklar
- Travmatik lezyonlar
- Gingival pigmentasyonlar

### B) Periodontitis

#### 1. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar

- Nekrotizan gingivitis
- Nekrotizan periodontitis
- Nekrotizan stomatitis

#### 2. Sistemik Hastalıklarla Birlikte Görülen Periodontitis

#### 3. Periodontitis:

- Evreleri:
  - Evre 1
  - Evre 2
  - Evre 3
  - Evre 4
- Kapsam ve Dağılımı:
  - Lokalize
  - Generalize
  - Molar-insizor
- Dereceleri:
  - Derece A
  - Derece B
  - Derece C

### C) Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar

- Periodontal destek dokuları etkileyen sistemik hastalıklar ve durumlar
- Periodontal apseler ve endodontik-periodontal lezyonlar
- Mukogingival deformiteler ve durumlar
- Travmatik okluzal kuvvetler

- Diş ve protez kaynaklı faktörler

#### D) Peri-implant Hastalıklar ve Durumlar

- Peri-implant sağlık
- Peri-implant mukozitis
- Peri-implantitis
- Peri-implant yumuşak ve sert doku yetersizlikleri olarak sınıflandırılmışlardır (6).

#### 2.2.1. Periodontal ve gingival sağlık

Periodontal sağlık, klinik olarak saptanabilir enflamasyonun olmaması ile tanımlanır. Klinik dişeti sağlığı enflamasyon ve homeostaz ile uyumlu biyolojik konak yanıtı ile ilişkilidir. Klinik dişeti sağlığı, sağlam, yani klinik ataşman kaybı veya kemik kaybı olmayan bir periodonsiyumda ve periodontitis olmayan bir hastada (örneğin, bir tür dişeti çekilmesi olan veya kron uzatma ameliyatını takiben) veya periodontitis öyküsü olan ve şu anda periodontal olarak stabil olan bir hastada azalmış bir periodonsiyumda bulunabilir. Gingivitis ve periodontitis tedavisini takiben klinik dişeti sağlığı geri kazanılabilir. Bununla birlikte, tedavi edilmiş ve mevcut dişeti sağlığına sahip stabil periodontitis hastası, tekrarlayan periodontitis riski altında kalır ve buna bağlı olarak yakından izlenmelidir (35).

Bölge düzeyinde, klinik dişeti sağlığının sınıflandırılması:

- Sağlam bir periodonsiyumda klinik dişeti sağlığı
- Azaltılmış periodonsiyumda klinik dişeti sağlığı
- Stabil periodontitis hastası
- Periodontitis olmayan hasta (örn. çekilme, kron uzatma)

Sağlam bir periodonsiyumda dişeti sağlığının klinik özellikleri, sondlama sırasında kanama, eritem ve ödem, hasta semptomları, ataşman ve kemik kaybının olmaması ile karakterizedir. Fizyolojik kemik seviyeleri ile mine-sement birleşimi arası mesafe 1,0 ila 3,0 mm arasında değişir (35).

Azalmış periodonsiyumda dişeti sağlığının klinik özellikleri, azalmış klinik ataşman ve kemik seviyeleri olmasıyla beraber SK, eritem, ödem ve hasta semptomlarının olmamasıdır. Bununla birlikte, başarılı bir şekilde tedavi edilmiş ve stabil

periodontitis hastalarının tekrarlayan periodontitis açısından yüksek risk altında olduğu bilinmelidir. Periodontitis olmayan hastalarda periodontitis riskinin arttığına dair güncel bir kanıt bulunmamaktadır (35).

Sağlam bir periodonsiyumda gingivitis tedavisini takiben dişeti sağlığının klinik özellikleri, SK, eritem ve ödem, hasta semptomları, ataşman ve kemik kaybının olmaması ile karakterizedir (35).

Periodontitisin başarılı tedavisini takiben klinik dişeti sağlığı ise, klinik ataşman ve kemik seviyelerinde azalma varlığında SK, eritem, ödem ve hasta semptomlarının olmaması ile karakterize edilir (35).

### **2.2.2. Gingivitis**

Gingivitis, periodontal hastalığın en hafif şeklidir. Diş eti kenarı ile diş arasında diş plağı olarak bilinen, bakteri ve birikintilerin birikmesi sonucu oluşan diş eti iltihabını tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Gingivitis, ağız hijyeninin iyileştirilmesiyle geri döndürülebilen reaktif bir durumdur (36) Diş eti iltihabının neden olduğu doku değişikliklerinin tersine çevrilebilirliğine rağmen, diş eti iltihabı özel bir klinik öneme sahiptir çünkü bağ dokusu ataşmanı ve kemik kaybı ile birlikte diş eti iltihabı ile karakterize bir hastalık olan periodontitisin öncüsü olarak kabul edilir (37).

Gingivitis teşhisi SK'ya bakılarak basit, objektif ve doğru bir şekilde tanımlanabilir ve derecelendirilebilir. Sağlam periodonsiyuma sahip olan hasta eğer  $\geq$  %10 SK bulunuyor ve sondalama derinliği  $\leq$  3 mm ise gingivitis olarak değerlendirilir. Gingivitis hastalarında klinik ataşman kaybı ve radyografik kemik kaybı yoktur (37).

#### **Klinik, radyolojik ve biyolojik belirtiler ve semptomlar:**

1. Gingivitis klinik bir tanıdır. Gelişmekte olan teknolojiler gingivitisin mikrobiyolojik, moleküler ve patofizyolojik özelliklerine ışık tutmaya başlasa da kesin bilgiler mevcut klinik parametrelerin yerini almak için yeterli değildir.
2. Enflamasyonun klinik belirtileri eritem, ödem, ağrı, ısı ve fonksiyon kaybıdır.
3. Bunlar diş eti iltihabında klinik olarak şu şekilde ortaya çıkabilir:
  - a. Bıçak sırtı diş eti marjininin kaybı ve papilde küntleşme olarak görülen şişlik
  - b. Nazik sondalamada kanama

- c. Kırmızılık
  - d. Nazik sondlamada rahatsızlık
4. Bir hastanın bildirebileceği semptomlar şunları içerir:
- a. Diş eti kanaması (metalik/değişmiş tat)
  - b. Ağrı
  - c. Ağız kokusu
  - d. Yemek yeme zorluğu
  - e. Görünüm (şişmiş kırmızı diş etleri)
  - f. Ağız sağlığıyla ilişkili yaşam kalitesinde azalma
5. Gingivitis teşhisi için radyografiler kullanılamaz (35, 38).

### 2.2.3. Periodontitis

2017 Dünya Çalıştayında belirtildiği üzere periodontitisin tanımı, gingival enflamasyon, klinik ataşman ve alveolar kemik kaybı, periodontal cep oluşumu; tedavi edilmediği takdirde ise artmış mobilite ve diş kaybı ile karakterize yıkıcı bir hastalıktır. Başlıca özellikleri, klinik ataşman kaybı ile ortaya çıkan periodontal doku desteği kaybı, alveolar kemik kaybı, periodontal cep varlığı ve dişeti kanamasıdır.

Periodontitisi klinik olarak tanımlamak için, komşu olmayan  $\geq 2$  dişin interproksimal, bukkal veya oral bölgesinde KAK  $\geq 2$  mm veya SCD  $\geq 3$  mm olmalıdır ve klinisyenler kemik kaybının radyografik değerlendirmeleriyle, interproksimal doku kaybı varlığını doğrulamalıdır. Periodontitisin klinik olarak eksiksiz tanımlanabilmesi için SK alanlarının olması, SCD  $> 3$  mm olan ve KAK  $\geq 3$  mm olan iki veya daha fazla diş gerekmektedir (33).

Periodontitis son sınıflandırmaya göre, üç alt başlık altında toplanmıştır (32).

- a) Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
- b) Sistemik Hastalıklarla Birlikte Görülen Periodontitis
- c) Periodontitis

Periodontitis, şiddeti ve kompleksitesi, yayılımı ve dağılımı, tedaviye cevabı ve ilerleme hızı olmak üzere 3 ayrı açıdan değerlendirilmiştir.

- Şiddeti ve kompleksitesine göre; Evre-1, Evre-2, Evre-3, Evre-4
- Yayılımı ve dağılımına göre; Lokalize, Generalize ve Molar-İnsizor
- İlerleme hızı ve tedaviye yanıtına göre; Derece-A, Derece-B, Derece-C (32).

### **2.2.3.1. Periodontitis evreleri**

**Evre I:** Gingivitis ve periodontitis sınırındadır. Ataşman kaybının erken evresini belirtir. Gingival enflamasyon ve biyofilm birikiminin sürekliliğine yanıt olarak meydana gelmektedir (34).

**Evre II:** Detaylı klinik periodontal muayene sonrası periodontitisin yol açtığı diş desteğine yaptığı hasarın yerleşik formunu temsil eder. Bu evrede standart tedavi prensiplerine cevabın dikkatle değerlendirilmesi önemlidir. Bununla beraber vaka derecesi ve tedavi yanıtına göre, daha yoğun bir tedavi gerekebilmektedir (34).

**Evre III:** Bu aşamada, bağlantı epiteli önemli zararlar görmüştür ve ileri tedavi olmadığında diş kaybı meydana gelebilir. Evre III, kökün orta kısmına uzanan ve derin kemik içi defektlerin varlığı, furkasyon tutulumu, periodontal nedenli diş kaybı öyküsü ve lokalize kret defektlerinin varlığı ile karmaşık olan derin periodontal lezyonlar ile karakterizedir. Diş kaybı olasılığına rağmen, çiğneme fonksiyonu korunduğu için kompleks tedavi gerektirmez (34).

**Evre IV:** Önemli miktarda diş kaybına sebep olabilecek, ileri seviyede periodontal desteğin kaybı ve mastikator sistem fonksiyonlarının kaybı ile karakterizedir. Bu evrede: kökün apikal 1/3'üne uzanan derin periodontal lezyonlar, çoklu diş kaybı geçmişi, sekonder okluzal travmaya bağlı dişlerde hiper mobilite, posterior kapanışın bozulması mevcuttur. Çiğneme fonksiyonlarının stabilize edilmesi veya restorasyonu planlanmalıdır (34).

**Tablo 2.1.** Periodontitis evreleri (34)

Periodontitis Evreleri		Evre I	Evre II	Evre III	Evre IV
<b>Şiddet</b>	<b>Kaybın en fazla olduğu bölgedeki KAK</b>	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥8 mm
	<b>Radyografik kemik kaybı</b>	Koronal üçlüde (<15%)	Koronal üçlüde (15%-33%)	Kökün orta üçlüsüne uzanan veya geçen	Kökün apika üçlüsüne uzanan veya geçen
	<b>Diş kaybı</b>	Periodontitis nedeniyle diş kaybı yok	Periodontitis nedeniyle diş kaybı yok	Periodontitis nedeniyle ≤4 diş kaybı	Periodontitis nedeniyle ≥5 diş kaybı
<b>Karmaşıklık</b>	<b>Lokal</b>	Maksimum sondlama derinliği ≤4mm ve çoğunlukla horizontal kemik kaybı	Maksimum sondlama derinliği ≤5mm ve çoğunlukla horizontal kemik kaybı	Evre II'ye ek olarak: Sondlama derinliği ≥6mm Vertikal kemik kaybı ≥3mm sınıf II veya III Furkasyon problemi Orta kret defekti	Evre III'e ek olarak: Daha kapsamlı rehabilitasyona ihtiyaç vardır: Çiğneme disfonksiyonu Sekonder okluzal travma (diş mobilitesi derece ≥2) Şiddetli kret kaybı Kapanış düzensizlikleri 20'den daha az kalan diş (10 karşılıklı çift)
<b>Kapsam ve Dağılımı</b>	<b>Evrelere tanımlayıcı olarak eklenmelidir</b>	Her evre için, lokalize (ilgili dişlerin <%30'u), generalize veya molar / kesici paterni olarak tanımlayınız.			

### 2.2.3.2. Periodontitis dereceleri

Derecelendirme, sınıflandırmaya başka bir boyut katmakta ve hastalığın ilerleme hızının anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Tablo2.2.'de; periodontitis progresyonunun kanıtlarına dayanan periodontitisin derecelendirilmesi görülmektedir. Doğrudan kanıt, longitudinal gözlemlere (örneğin eski tanısal radyografiler) dayanmaktadır. Dolaylı kanıtlar ise, en fazla etkilenen dişteki ataşman kaybının yaşa oranına bakılarak (kök yüzeyindeki radyografik kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı) değerlendirilir. Bu derecelendirme daha sonra risk faktörleri göz önünde bulundurularak yeniden düzenlenebilmektedir (34).

**Derece A:** Periodontitis hastalığının ilerleme hızı yavaştır. 5 yıldan uzun sürede radyografik kemik kaybı veya KAK gözlenmemektedir. Radyografik kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı 0.25'ten küçüktür. Biyofilm miktarı fazla olmasına rağmen kemik yıkımı azdır. Sigara kullanımı yoktur, glisemik indeks değerleri normaldir veya diyabet belirtileri gözlenmemektedir (33, 34).

**Derece B:** Hastalığın ilerleme hızı orta derecededir. 5 yıldan uzun sürede meydana gelen radyografik kemik kaybı veya KAK miktarı 2 mm'den az olduğu görülmektedir. Radyografik kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı 0.25 ile 1 arasındadır. Kemik yıkımı, biyofilm birikimi ile orantılı olmaktadır. Sigara kullanımı günde 10 taneden azdır, diyabet hastalarında HbA1c değeri %7'nin altındadır(33, 34).

**Derece C:** Hastalığın ilerleme hızı yüksektir. 5 yıldan uzun sürede meydana gelen radyografik kemik kaybı veya KAK miktarı 2 mm veya 2 mm'nin üzerinde görülmektedir. Radyografik kemik kaybı yüzdesinin yaşa oranı 1'den büyüktür. Mevcut biyofilm ile kemik yıkımı orantılı değildir. Hızlı ilerleme söz konusudur. Sigara kullanımı günde 10 tane veya daha fazladır ve diyabet hastalarında HbA1c değeri %7 veya daha büyüktür(33, 34).

**Tablo 1.2.** Periodontitis dereceleri (34)

Periodontitis Derecesi			Derece A: Yavaş İlerleme	Derece B: Orta İlerleme	Derece C: Hızlı İlerleme
Primer Kriter	İlerlemenin direk kanıtları	Longitudinal veriler (radyografik kemik kaybı veya KAL)	5 yıldan fazla kayıp olmadığına kanıtı	5 yıldan fazla <2 mm kayıp	5 yıldan fazla $\geq 2$ mm kayıp
	İlerlemenin indirek kanıtları	% kemik kaybı / yaşı	<0.25	0.25- 1.0 arası	>1.0
		Vaka Fenotipi	Düşük seviye yıkımla beraber ağır biyofilm eklemleri	Biyofilm Eklemleriyle orantılı yıkım	Yıkım biyofilm eklemlerine verilen beklentiye aşar: Hızlı progresyon ve / veya erken başlangıçlı hastalık dönemlerini düşündüren spesifik klinik modeller.
Derece Modifiye Ediciler	Risk faktörleri	Sigara kullanımı	Sigara kullanımı yok	Sigara kullanımı <10 sigara/gün	Sigara kullanımı $\geq 10$ sigara/gün
		Diyabet	Norm glisemik / diyabet tanısı yok	HbA1c <7.0% olan diyabet hastası	HbA1c $\geq 7.0\%$ olan diyabet hastası

### 2.3. Periodontal patogenez

Periodontal hastalıklar, mikrobiyal dental plağın dişeti oluğu içerisinde yerleşmesinin ardından patojen bakteriler ve konak cevabı arasındaki etkileşimler sonucu ortaya çıkan enflamatuvar hastalıklardır (31, 39). Dental plak ve ağız boşluğunda bulunan patojen bakteriler periodontal hastalığın başlamasının temelidir, fakat hastalığın oluşmasının tek sorumlusu değildir (40). Periodontal hastalık diğer enfeksiyon hastalıklarından farklı olarak fırsatçı bir enfeksiyon hastalığıdır. Ağız boşluğunda ve dişeti çevresinde daima var olan bakterileri tamamen uzaklaştırmak mümkün değildir. Periodontal hastalık oluşması için her ne kadar dental plak varlığı gerekse de periodontal hastalıkta bağ dokusu yıkımı ve alveol kemik kaybı, konağın bu patojenlere vermiş olduğu cevaba bağlıdır (39, 40).

Hafif şiddette periodontitis ve gingivitis, popülasyonda şiddetli periodontitise göre daha yaygın gözlenmektedir. Bazı bireylerin periodontal hastalığa daha yatkın olduğu, bakteri plağının oluşumuyla periodontal dokularda gelişen konak immün-enflamatuvar yanıt ile bu artan duyarlılık arasında bağlantılı olduğu saptanmıştır (41, 42). Ayrıca çevresel ve kazanılmış risk faktörlerinden diyabet, sigara kullanımı gibi faktörler konak cevabını etkileyerek periodontal hastalığın şiddetinin artmasına sebep olabilmektedir (43).

Periodontal dokunun varlığını sağlıklı bir şekilde devam ettirebilmesi için mikrobiyal dental plaktan etkilenen bölgede savunmanın yeterli olması gereklidir. Bölgeye göç eden hücrelerden kaynaklı sitokin, enzim ve PGE<sub>2</sub> gibi mediyatörler ve dokuda halihazırda bulunan kalıcı hücreleri durumu kontrol altına almaya ve doku kaybı olmadan doku homeostazını korumaya çalışırlar. Savunma hücreleri yeterince görevini yapamaz veya patojenik mikroorganizmalar uzun süre etkilerine devam ederlerse, yeterli savunma sağlanamaz ve dokunun dengesi yıkım yönünde bozulur (44).

Mikroorganizmaların büyük ölçüde etkisi, savunma sistemini harekete geçirerek dolaylı yoldan doku yıkımına neden olmalarıdır. Büyük ölçüde doku yıkımında sorumluluk, periodonsiyumda koruma ve savunma görevini üstlenen konak immün sistemi hücrelerindedir (44). Sağlıklı periodontal dokuda, konak savunma hücreleri ile mikrobiyal dental plak içindeki mikroorganizmalar arasında bir denge vardır. Mikroorganizmalar yaşamlarını sürdürebilmek için ortama adaptasyon gösterirken,

konak ise mikroorganizmaların gelişimini sınırlamaktadır. Periodontal hastalıkların ortaya çıkması bu dengenin bozulmasıyla olur (45).

Konak savunma sisteminin parçası olan dişeti dokusu ve DOS'taki enflamatuvar hücre infiltrasyonu ağırlıklı olarak; nötrofiller, lenfositler ve plazma hücrelerinden oluşmaktadır. Mikroorganizmalara karşı ilk safı oluşturan nötrofiller, periodontal cep içerisindeki esas hücre tipidir. Mikrobiyal tehlikeye karşı en önemli lokal yanıtı veren periodontal hastalığın akut döneminde endotellerden göç eden nötrofillerdir. İltihabi bölgede damar epitelini terk eden nötrofiller, bağ dokusu boyunca ilerler ve dişeti oluğunda birikirler. Subgingival plak ve dişeti dokusu arasında bir bariyer oluşmasını sağlarlar. Enfeksiyonun devam ettiği ve nötrofillerin etkisiz kalmaya başladığı durumlarda monositler aktive olarak konak savunmasının ikinci hattını oluştururlar. Mikroorganizmalarla ilk karşılaşması ve koruyucu bariyeri oluşturması nötrofillerin konak direncinin esas elemanı olarak gösterilme nedenidir (46).



**Şekil 2.1.** Periodontal hastalıkta patojenik süreçlere şematik genel bakış (47). (A) Proenflamatuvar sitokin kaskadının güçlendirilmesinde yer alan ve spesifik bağışıklık hücrelerinin toplanmasına, aktivasyonuna ve farklılaşmasına yardımcı olan sitokin salgılarının ilk dalgası gösterilmektedir. (B) Ek olarak, belirli bir lenfosit alt kümesinin farklılaşmasıyla yakından ilişkili bir grup sitokin, mikrobiyom tarafından uyarıldıktan sonra mononükleer fagositler ve antijen sunan hücreler tarafından salgılanır. (C) Bu hücrelerin her biri, işlev görebilecek ve sonunda dokunun tahrip olmasına yol açabilecek belirli bir sitokin modeli salar (47).

Periodontopatojenik bakteriler, doğal immün yanıtı takiben kazanılmış immün mekanizmaların harekete geçmesine yol açmaktadır. Mikroorganizmaların dentritik hücreler, monosit türevleri ve B hücreleri gibi antijen sunan hücreler tarafından tanınması ile konak kazanılmış cevabı ortaya çıkmaktadır. Karşılaşma ve tanıma sonrasında, olgun dentritik hücreler antijene özgü lenfositlerin polarizasyon ve aktivasyonunu belirleyecek sitokinlerin farklı çeşitlerini oluşturur (48, 49). Periodontal enfeksiyona karşı verilen immün yanıtın merkezinde rol oynayan T lenfositlerdir. T lenfositleri doğal ve kazanılmış immün yanıtın fonksiyonel aktivitesini kontrol eder (49). CD4<sup>+</sup> T lenfositleri, özelleşmiş sitokin yapım profilleri ve fonksiyonlarına göre antijenik uyarılmadan sonra karakterize edilmiş farklı hücre alt kümelerine farklılaşır. Başlangıçta sitokin yapım şekillerine göre CD4<sup>+</sup> T hücreleri iki alt sınıfa ayrılmıştır. Yardımcı T hücre 1 (Th1) ve 2 (Th2) olarak adlandırılan bu hücreler arasındaki denge kritik öneme sahiptir. Hücrel immünite ile ilişkili olan Th1 proenflamatuvar özelliklere sahip iken, hücrel immünite ile

ilişkili olan Th2 anti enflamatuvar özellik gösterir. Konakta Th1 ya da Th2 hücrelerden hangisinin etki göstereceği, mikrobiyal değişim, genetik ve çevresel faktörlerle açıklanmaya çalışılmaktadır (49).

Konakta immün-enflamatuvar cevabı uyaran mikrobiyal antijenler ve virülans faktörleridir. Konak reaksiyon gösterebilmek için ürettiği sitokinleri, kininleri, eikozanoidleri, kompleman aktivasyon ürünlerini ve MMP'leri aracı olarak kullanır (42, 50). Periodontitis oluşumunda bakterilerin olması zorunlu ancak yeterli değildir (51). Bununla birlikte, konağa bağlı olan kalıtım ve sigara gibi çevresel etkenler, hastalığın görülme ihtimalini ve şiddetini belirleyen önemli faktörlerdir. Periodontal yıkıma sebep olan bakteriler konak savunma sisteminin çeşitli komponentlerini aktive ederek dolaylı yoldan etki ederler (52).

Sonuç olarak; tüm bu mekanizmaların rol oynadığı periodontal doku yıkımına neden olan periodontal hastalıkların meydana gelebilmesi mikroorganizmaların varlığında olur; ancak hastalığın gelişebilmesi için periodontopatojen olarak kabul edilen mikroorganizmalara karşı duyarlı bir konağa ve onun göstereceği immün-enflamatuvar cevaba ihtiyaç vardır (53).

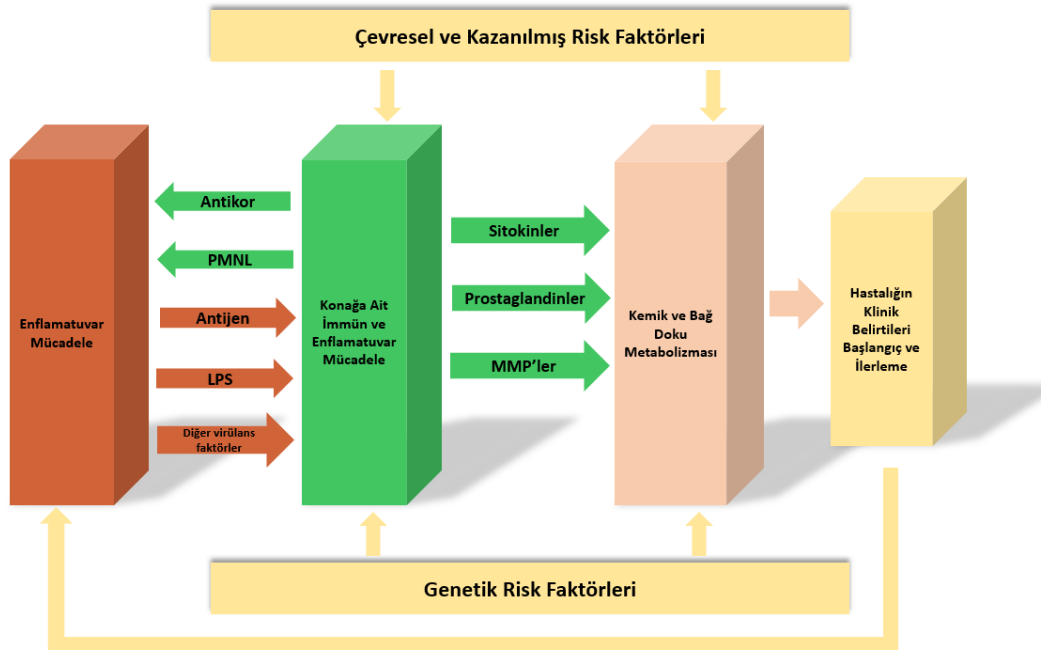
Gingival dokularda meydana gelen farklı durumlar, birikmiş olan dental biyofilme karşı oluşan histopatolojik, radyografik ve morfolojik özelliklerine göre incelenmiştir. Bu değişimler başlangıç lezyonu, erken lezyon, yerleşmiş lezyon ve ilerlemiş lezyon olarak dört aşamada değerlendirilmiştir (54).

Diş eti dokuları, mikrobiyal plak birikimine başlangıç lezyonu olarak adlandırdığımız klasik bir akut eksüdatif vaskülit ile 2 ila 4 gün içinde yanıt verir. Perivasküler kolajen kaybını içeren bu yanıt, akut yaralanmaya maruz kalan diğer dokuların çoğunda ortaya çıkan yanıtla karşılaştırılabilir ve mikrobiyal plak tarafından kemotaktik ve antijenik maddelerin hazırlanması ve salınmasının bir sonucu olabilir (55).

Plak birikiminin başlamasından sonraki 4 ila 7 gün içinde, erken lezyon gelişir. Lenfositlerin ve diğer mononükleer hücrelerin yoğun infiltratı, fibroblastların patolojik değişimi ve bağ dokusu maddesinin devam eden kaybı ile karakterizedir. Erken lezyonun yapısal özellikleri, bir tür hücresel aşırı duyarlılıkta beklenenlerle tutarlıdır (56). Retepegleri oluşturmak üzere epitel proliferer olur, DOS akışı

artmaktadır. Erken lezyonu, 2 ila 3 hafta içinde gelişen plazma hücrelerinin baskınlığı ile ayırt edilen yerleşmiş lezyon takip eder. Önemli kemik kaybının yoktur. İnsanlarda ve hayvanlarda son derece yaygın olan yerleşik lezyon, yıllarca veya on yıllar boyunca stabil kalabilir veya ilerleyici, yıkıcı bir lezyona dönüşebilir.

Bu dönüşüme neden olan faktörler anlaşılammıştır. Klinik olarak bu aşama ortadan şiddetliye doğru değişen çeşitli aşamalarındaki gingivitis olarak görülmektedir. Son aşama olan ilerlemiş lezyonun önemli özellikleri, alveolar kemik ve periodontal ligament kaybı ve fibrozis ile doku mimarisinin bozulmasıdır. Ayrıca plazma hücreleri baskın olmaya devam etmektedir. İlk, erken ve yerleşmiş lezyonlar dişeti iltihabında sıralı aşamalardır ve klinik olarak periodontitis olarak ortaya çıkan ilerlemiş lezyondan ziyade, insanlarda enflamatuvar dişeti ve periodontal hastalığın büyük bölümünü oluştururlar (55).



**Şekil 1.2.** Periodontitis patogeneğinde konak-mikrop etkileşimlerini gösteren klasik Page & Kornman modeli (31) PMNL: polimorf nükleer lökosit, LPS: Lipo poli sakkarit, MMP: Matriks metallo proteinaz.

## 2.4. Sitokinler

Hücre fonksiyonunun aracılığı olarak görev yapan ve yapısal ve enflamatuvar hücreler gibi çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen çözünür proteinlere sitokinler denir. Çeşitli kanıtlar, sitokinlerin sadece doku homeostazında değil, aynı zamanda birçok enfeksiyöz hastalığın patogeneğinde de önemli roller oynadığını ortaya

koymuştur. Normal periodonsiyumdaki biyolojik aktiviteler ve periodontal hastalıkların patogenezi üzerine yapılan son araştırmalar, bölgelerde gözlemlenen biyolojik aktivitelere çeşitli sitokinlerin dahil olduğunu açıklığa kavuşturmuştur. Sitokinler, anabolik ve katabolik aktiviteler arasında hassas bir denge gerektiren bir süreç olan doku homeostazının korunmasında çok önemli roller oynarlar. Özellikle IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 gibi enflamatuvar sitokinler hastalıklı periodontal dokularda mevcuttur ve bunların sınırsız üretimi kronik lökosit alımında ve doku yıkımında rol oynuyor gibi görünmektedir. Sitokin üretiminin veya profilinin izlenmesi, bir bireyin periodontal hastalık durumunu ve/veya hastalığa yatkınlığını teşhis etmemize izin verebilir (57).

Proenflamatuvar sitokin, enflamatuvar yanıtın seyri sırasında indüklenen ve bunun başlangıcı ve/veya ilerlemesi ile yakından ilişkili olan sitokin olarak tanımlanır. Şimdiye kadar IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 ve TNF- $\alpha$  genel olarak proenflamatuvar sitokinler olarak sınıflandırılır (57). Anti-enflamatuvar sitokinler ise, proenflamatuvar sitokin yanıtını kontrol eden bir dizi immün düzenleyici moleküldür. Sitokinler, insan bağışıklık tepkisini düzenlemek için spesifik sitokin inhibitörleri ve çözünür sitokin reseptörleri ile uyum içinde hareket eder. Başlıca anti-enflamatuvar sitokinler, IL-1 reseptör antagonisti, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 ve IL-13'ü içerir. IL-1, TNF- $\alpha$  ve IL-18 için spesifik sitokin reseptörleri de proenflamatuvar sitokin inhibitörleri olarak işlev görür (58).

#### **2.4.1. İnterlökin 1 $\beta$**

IL-1 ilk olarak 1940'larda ısıya duyarlı bir protein olarak tanımlandı ve hayvanlara veya insanlara enjekte edildiğinde ateş oluşturan akut granülositik eksüda sıvısında bulunmuştur (59).

IL-1, geniş bir yelpazede enflamatuvar, metabolik, fizyolojik, hematopoetik ve immünolojik özelliklere sahip iki polipeptit (IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ ) için kullanılan bir terimdir. IL-1'in her iki formu da farklı gen ürünleri olmalarına rağmen, aynı hücre yüzeyi reseptörlerini tanır ve çeşitli biyolojik aktiviteleri paylaşırlar. Deri keratinositleri, bazı epitel hücreleri ve merkezi sinir sistemindeki bazı hücreler haricinde, IL-1 için kodlanan önemli miktarda mRNA diğer hücrelerin çoğunda sağlıklı gözlenmez. Bununla birlikte, enfeksiyon, mikrobiyal toksinler, enflamatuvar ajanlar, aktive lenfosit ürünleri, kompleman ve pıhtılaşma bileşenlerine yanıt olarak

çeşitli hücreler tarafından IL-1 üretiminde dramatik bir artış vardır. Başta miyeloid lösemiler olmak üzere bazı hastalıklarda IL-1 $\beta$  geninin kendiliğinden eksprese olduğu görülmektedir. "Lökositler arasında" anlamına gelen interlökin adı yanıltıcıdır çünkü IL-1 sadece lökositler tarafından değil diğer hücre soyları tarafından da sentezlenir; ayrıca IL-1'in etkileri lökositlerle sınırlı olmayıp neredeyse her dokuda kendini gösterir. IL-1 bu nedenle bir "sitokin"dir ve bu terim IL-1'in (ve ilgili polipeptitlerin) kaynaklarının ve etkilerinin birkaç farklı hücre tipini içerdiğini ifade etmek için kullanılır. IL-1, birbiriyle örtüşen biyolojik özelliklere sahip bir grup sitokine aittir (15).

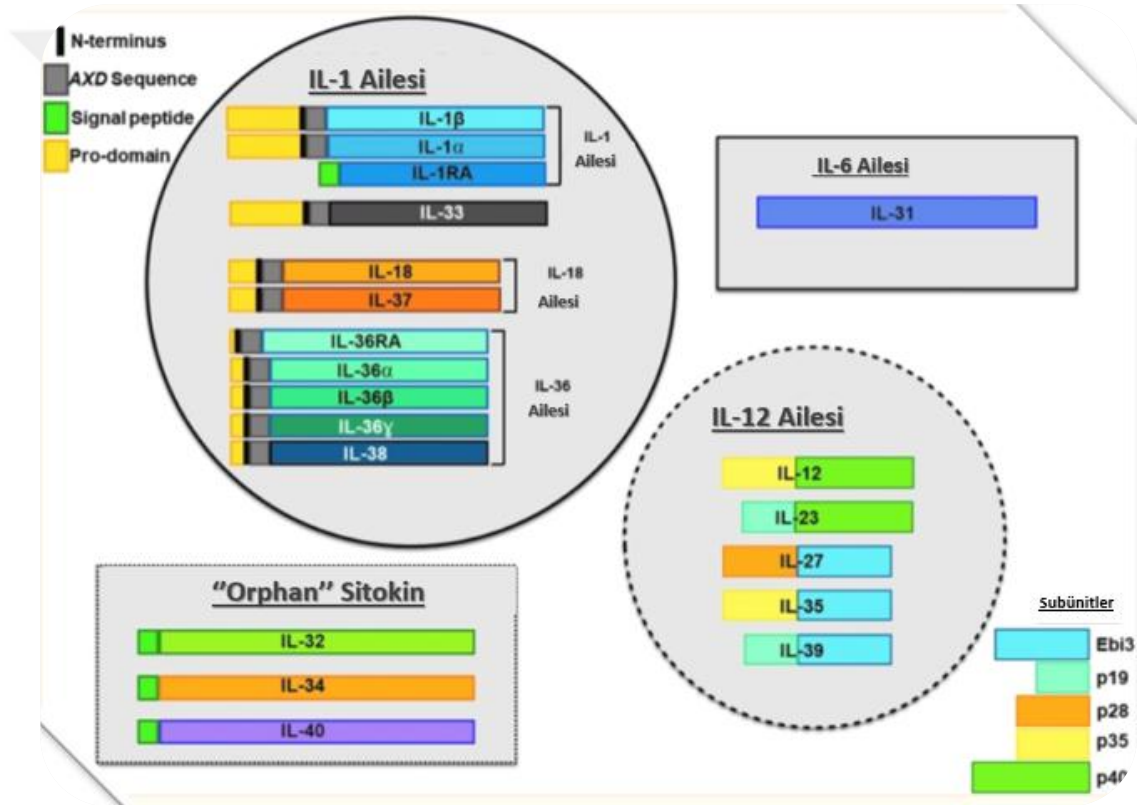
IL-1  $\beta$ , özellikle makrofaj, NK hücreleri, monositler ve nötrofiller tarafından eksprese edilen proenflamatuvar bir sitokindir, ancak aynı zamanda endotelial hücreler, keratinositler, sinoviyal hücreler, osteoblastlar, glial hücreler tarafından da üretilir. IL-1  $\beta$ 'nin ana etkileri şunlardır: (i) Endotel hücre aktivasyonu, (ii) Nötrofil diapedez indüksiyonu ve (iii) Lenfositlerin (T ve B) sitokin sentezinin artırılması (16).IL-1'in en önemli biyolojik aktivitelerinden biri lenfosit aktive edici faktör olmasıdır. IL-1, B hücresi proliferasyonunun artışı ve bunun sonucunda artan immüno-globulin sentezini belirleyen IL-2 T lenfosit kaynaklı üretimini artırır. IL-1'in merkezi sinir sistemi ile etkileşimi ateş oluşumundan sorumludur. Ayrıca IL-1, kemik rezorpsiyonunu ve kollajen birikimini uyarır (60).

Fizyolojik koşullar altında, dokular IL-1 $\beta$  üretmez, ancak patojenler ve hasarlı hücre ürünleri tarafından aktive edilen model tanıma reseptörlerinin (örneğin, toll benzeri reseptörler) aktivasyonu yoluyla hızla indüklenebilir (61).

Proenflamatuvar bir sitokin olarak IL-1 $\beta$ , periodontitiste enflamasyona, immün regülasyona ve kemik rezorpsiyonuna katılır. Klinik bulgular, önemi hakkında güçlü kanıtlar sunmaktadır. Periodontitiste IL-1 $\beta$ 'nin biyolojik etkileri, dokudaki konsantrasyonunun artmasına bağlıdır. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında periodontitisli hastaların DOS ve tükürüğünde sıklıkla IL-1 $\beta$  tespit edilir. Daha derin cep derinlikleri ve sondlamada daha şiddetli kanaması olan hastalarda DOS IL-1 $\beta$  seviyeleri artmıştır. Ayrıca, kronik periodontitisli hastalarda serum IL-1 $\beta$  da sistemik bir etkiye neden olarak yüksek bir seviyelere ulaşır (62).

### 2.4.2. İnterlökin 40

B hücresi ile ilişkili bir sitokin olan IL-40, C17orf99 geni tarafından kodlanan, yakın zamanda keşfedilmiş bir sitokindir. Bu sitokin ilk olarak 2017 yılında Catalan-Dibene ve arkadaşları tarafından, insan genomunda IL-40'ı kodlayan gen C17orf99 olarak açıklanır ve esas olarak fetal karaciğer, kemik iliği ve aktive edilmiş B hücreleri tarafından eksprese edilen ve 20-1 dahil olmak üzere 265 amino asitlik küçük salgılanmış bir protein olarak tanımlanmıştır (63). Benzersiz yapısal özelliklerine dayanarak IL-40, yerleşik sitokin ailelerinden hiçbirisiyle homoloji paylaşmayan birkaç sitokinlerle beraber "orphan" sitokin kategorisine girmiştir (64).



Şekil 2.3. IL-30 ila IL-40'ın ve bunların hangi sitokin üst ailelerine ait olduklarının (veya olmadıklarının) grafik gösterimi (64).

2017'deki keşfi göz önüne alındığında, IL-40'ın hastalık süreçlerindeki etkisi hakkındaki literatür sınırlıdır. *In vitro* işlev analizinde, dalak B hücrelerinin, anti-CD40 ve anti-IgM antikorlarının aktivasyonu ile IL-40 üretebildiğini ortaya çıkardı. Ayrıca, TGF-β1'in aktive edilmiş B hücreleri tarafından IL-40 ekspresyonunu güçlendirdiğini bulmuşlardır (64). Diğer yeni kanıtlar, B hücrelerine ek olarak IL-40'ın CD68+ makrofajlar, CD4+ ve CD8+ T hücreleri gibi diğer bağışıklık hücreleri

tarafından da üretildiğini göstermiştir. Yazarlar ayrıca otoimmün romatizmal bir hastalık olan primer Sjögren sendromlu hastaların serum ve tükürük bezi dokularında IL-40'ın aşırı ekspresyonunu göstermiştir. Ayrıca yakın zamanda, romatoid artritli hastaların serumunda IL-40'ın yukarı regüle edilmiş seviyeleri bulunmuştur (65, 66). Bu bulgular, IL-40'ın enflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde bir rolü olduğunu düşündürmektedir.

## **2.5. Matriks Metalloproteinazlar**

MMP'ler, hücre dışı matrisin çeşitli bileşenlerini parçalayan 20'den fazla enzimden oluşan bir ailedir. MMP'ler, matriste bozulmayı ve yeniden şekillenmeyi içeren çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullarla ilişkilidir (67).

MMP'ler, ön alanlara ve katalitik alanlara ve ayrıca substrat özgüllüğü, tanıma ve etkileşim gibi faktörleri yöneten diğer alanlara sahiptir (68). Diğer proteolitik enzimler gibi, MMP'ler de aktif olmayan proenzimler veya zimojenler olarak sentezlenir. MMP proenzimlerinin aktivasyonu için, propeptid alanının proteolitik olarak çıkarılması veya sistein-çinko etkileşiminin ektopik bozulması ile sistein-çinko anahtarının açılması gereklidir (68). Ön alanın karboksil terminali, enzim gecikmesini koruyan eşleşmemiş, korunmuş bir sisteinin tiyol grubunu içerir. Aktif bölgede bu sistein, katalitik çinko atomunu inaktive eden ve suyu dışarıda bırakan dördüncü bir ligand olarak görev yapar. Sistein-çinko çiftinin proteoliz ile bozulması veya tiyol grubunun suyla yer değiştirmesiyle sonuçlanan konformasyonel bir değişiklik, aktivasyon sürecine neden olur. Aktivasyon süreci, enzimin propeptidi hidrolize ettiği "sistein geçiş" mekanizması ile tamamlanır (69).

MMP doku inhibitörü (TIMP) dokulardaki MMP aktivitelerinin lokal kontrolünde yer alır. Çoğu TIMP aktif MMP'leri inhibe ederken, bazıları proMMP aktivasyonunu da engeller; Örneğin TIMP-1, proMMP-9'a bağlanır ve TIMPs-2 ve -4, proMMP-2'ye bağlanır. TIMP'ler, MMP aktivitesini inhibe etmenin yanı sıra, embriyogenez, hücre özelliklerinin ve süreçlerinin düzenlenmesi (büyüme, hayatta kalma, morfoloji ve apoptoz gibi), anjiyogenezin inhibisyonu ve steroidogenez gibi çeşitli düzenleyici süreçlere de katılır (70, 71). TIMP'ler, dokulardaki MMP'lerin birincil inhibitörleri iken,  $\alpha$ 2-makroglobulin, vücut sıvılarındaki MMP aktivitesinin birincil düzenleyicisidir. MMP yıkımı  $\alpha$ 2-makroglobulini ile geri dönüşümsüz iken, TIMP ile ilişkili MMP inhibisyonu geri dönüşümlüdür (72).

Periodontitis, romatoid artrit, maküler dejenerasyon ve tümör hücresi invazyonu gibi hastalıklarda meydana gelen doku yıkımına MMP ailesinin üyeleri aracılık eder (73). Kronik periodontitis hastalarını diş eti iltihabı hastaları ve sağlıklı kontrol denekleri ile karşılaştırırken, tükürükte daha yüksek MMP-8 seviyeleri ve DOS'ta daha yüksek MMP-9 seviyeleri tespit edilmiştir (74). DOS MMP-8 aktivasyonunun, kronik periodontitis hastalarında, sağlıklı denekler ve gingivitis hastalarına kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur (75).

### **2.5.1. MMP-8**

MMP'ler hem doku yıkımından hem de yeniden şekillenmeden sorumlu konak proteinazlardır (17, 18). İlerleyen periodontal yıkım sırasında, dişeti ve periodontal ligament kolajenleri konak hücre kaynaklı interstisyel kolajenazlar tarafından parçalanır. Alveolar kemik matriksinde bulunan doğal tip I, II ve III kolajenlerin üçlü sarmal yapılarını parçalayabilen hayati bir interstisyel kollajenaz, kolajenaz-2'dir. MMP-8 olarak da adlandırılan kolajenaz-2, kemik iliğindeki polimorf nükleer lökositlerin olgunlaşması sırasında salınır. Üretildikten sonra glikozile olur ve alt hücrel spesifik granüllerde önceden depolanır, burada daha sonra nötrofiller bir enflamasyon bölgesine toplandığında büyük miktarlarda salınır (8). Chubinskaya ve arkadaşları, insan gingival ve periodontal ligament fibroblastları ve kondrositler gibi nötrofil temelli olmayan mezenkimal hücrelerin de MMP-8 üretebildiğini göstermiştir (76).

### **2.6. Periodontal Hastalığın Teşhisinde Tükürük**

Periodontitis tanısı klinik muayene ve periodontal dokuların radyografik değerlendirmesine dayanmaktadır. Klinik ve radyografik incelemelerin büyük epidemiyolojik araştırmalarda kullanılması zahmetli ve pahalıdır. Bu nedenle, daha büyük epidemiyolojik araştırmalarda periodontal hastalıkların teşhisi için tükürükteki spesifik biyobelirteçlerin analizleri cazip bir seçenek olabilir (12).

İnsan tükürüğünün %98'i su ve %2'si elektrolitler, mukus, antibakteriyel bileşikler ve çeşitli enzimler gibi diğer bileşiklerden oluşur. Tükürüğün çoklu işlevleri arasında durulama, gıda maddelerinin çözünmesi, gıda ve bakteri temizliği, yumuşak dokuların yağlanması, bolus oluşumu, detritusun seyreltilmesi, yutma, konuşma ve çiğnemenin kolaylaştırılması yer alır ve bunların tümü sıvı özellikleri ve spesifik bileşenleri ile ilgilidir. Ayrıca tükürük bileşenleri mukozal kaplamaya, sindirime ve

antibakteriyel savunmaya katkıda bulunur (77). Tükürükte IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  ve MMP-8 ve MMP-9 gibi ağız hastalıklarıyla ilişkili birçok enflamatuvar biyobelirteç tespit edilmiştir (9, 10). Ayrıca, tükürük biyobelirteçleri periodontitisi tespit etmek, periodontal hastalığın farklı biyolojik evrelerini göstermek ve çürük riskini değerlendirmek için kullanılmıştır (11, 12). Tükürükte giderek artan sayıda moleküler belirteç tanımlanmakta ve bazıları kanser, kardiyovasküler hastalıklar, otoimmün hastalıklar, viral ve bakteriyel hastalıklar ve insan immün yetmezlik virüsü gibi farklı hastalıklar için biyolojik belirteçleri temsil etmektedir (78).

Periodontitis biyobelirteçleri üzerine yapılan araştırmalar temel olarak üç hedefe yöneliktir: periodontal doku yıkımı gerçekleşmeden önce 'risk altındaki' hastaları belirlemek; hastalık aktivitesini ve ilerlemesini belirlemek ve yeni tedavi hedefleri bulmak amacıyla bu karmaşık hastalığa ilişkin anlayışımızı geliştirmek. Kan ve dişeti sıvısı daha önce tercih edilen biyolojik örnekler iken, tükürük son zamanlarda serum ve dişeti sıvısına benzer bir mediatör profiline sahip olmasıyla beraber, kolay erişilebilir olduğu için daha fazla dikkat çekmiştir (79).

Periodontal hastalığın tedavisi zaman alıcı ve pahalıdır; bu nedenle önlenmesi, erken teşhisi ve yönetimi, etkili bir şekilde ele alındığı takdirde önemli sağlık faydaları sağlaması muhtemeldir (80). Bununla birlikte, kronik enflamatuvar hastalıkların patogenezi anlamamızdaki sayısız ilerlemeye rağmen, periodontitis hala yalnızca bağ dokusu ve kemik yıkımı meydana geldiğinde teşhis edilmektedir. Ayrıca, hastalığın ilerlemesinin izlenmesi, radyografik değerlendirme ve (subjektif) görsel gözlemlerle birlikte SK, SCD ve ataşman kaybının ölçülmesini içeren oldukça yetenek ve teknik gerektiren zor bir süreçtir (81). Periodontal hastalığın erken teşhisi ve ilerlemenin belirlenmesi için biyobelirteçlerin geliştirilmesi son derece arzu edilen bir durumdur çünkü mevcut teşhis yaklaşımları mevcut hastalık aktivitesini yansıtmamakta, sadece geçmiş doku yıkımının kümülatif etkilerini değerlendirmektedir (8). Akılcı teşhis aynı zamanda hastalara da fayda sağlayacaktır çünkü hastalarda hastalığın ilerlemesine ilişkin bilginin yetersizliği, kasıtsız klinik yanlış tedaviye yol açabilir (80). Buna ek olarak, hastalıkla ilişkili tükürük araçları üzerine yapılan çalışmalar, sitokin biyoyararlanımını kontrol etmeyi (örneğin anti-sitokin antikorları, antagonistleri veya çözünür reseptörler yoluyla) veya aktive ettikleri hücre içi sinyal yollarını hedeflemeyi amaçlayan yeni tedavilerin

geliştirilmesine yardımcı olabilir; bu yaklaşımlar romatoid artrit gibi diğer kronik enflamatuvar hastalıkların tedavisinde başarılı olmuştur (79, 82).

Tükürük analizinin dezavantajları arasında ise tükürük üretimi ve akış hızının; sirkadyen ritim, yaş, toplama süresi, sıcaklık, bireyin hidrasyon durumu, kişinin sistemik sağlık ve duygusal durumu gibi faktörlerden etkilenmesi yer alabilir(83). Bu potansiyel sınırlamalara rağmen hem tıpta hem de diş hekimliğinde hastalıkların teşhisi, izlenmesi ve hastaların tedavi önerilerine uyumunun değerlendirilmesi için tükürükteki biyobelirteçlerin analizi önerilmektedir. Tarama aşamasında, gelecekteki hastalık aktivitesi açısından risk altında olan hastaları belirlemek için tükürüğün kullanılması, hastalığın başlamasını önlemek için hastanın risk yönetimi stratejilerini, önleyici bakımı ve/veya davranış değişikliğini artırmasına kapı açar. Teşhis aşamasında, hastalığın varlığının mümkün olan en erken aşamada belirlenmesi, daha az invaziv, daha az maliyetli tedaviye olanak sağlayabilir (84).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya Mayıs 2022 ile Haziran 2022 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Kliniği'ne muayene amacıyla başvuran periodontal olarak sağlıklı, gingivitis ve evre III düzey B periodontitis teşhisi koyulan 120 birey dahil edildi. Çalışmaya katılan gönüllülere çalışmanın gerekçesi ve yöntemi anlatıldıktan sonra asgari bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatıldı. (Ek1)

Çalışmamızın uygulanabilirliği için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 26.08.2020 tarih ve KAEK-648 karar numaralı etik onayı alındı. (Ek2) Araştırmamız Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinasyonu (BAP) birimi tarafından TDK-2021-5681 proje numarası ile desteklendi.

#### 3.1. Hasta Seçimi

- S grubu: Klinik ataçman kaybı ve radyografik kemik kaybı yok. Radyografik olarak mine sement bileşimi ile alveol kemiği arası mesafe  $\leq 2$ mm, SCD  $\leq 3$ mm, tüm ağız SK yüzdesi  $\leq 10\%$  ve diş etlerinin GI değerinin  $\leq 1$  olması ve dahil edilme kriterlerine uygun 40 hasta seçildi.
- G grubu: : Klinik ataçman kaybı ve radyografik kemik kaybı yok. Radyografik olarak mine sement bileşimi ile alveol kemiği arası mesafe  $\leq 2$ mm, SCD  $\leq 3$ mm, tüm ağız SK yüzdesi  $\geq 10\%$  ve GI değerinin  $\geq 2$  olması ve dahil edilme kriterlerine uygun 40 hasta seçildi.
- P grubu: 2017 World Workshop Periodontal ve Peri-İmplant Hastalıklar ve Koşullarının Sınıflandırılması Çalıştay 2. konsensüs raporunda periodontal ve peri-implant hastalıklar ve koşulları için yapılan yeni sınıflandırmaya göre, bu çalışmadaki tüm kronik periodontitis hastalarının hepsinde sahip olduğumuz veriler göz önünde bulundurularak Generalize evre III, derece B periodontitis hastaları seçilmiştir. Bu grubu generalize evre III periodontitise sahip 40 hasta oluşturdu. Bu hastalarda, dişlerinin % 30'undan fazlasında periodontal hastalık nedeniyle oluşmuş 5 mm ve üzerinde interproksimal KAK olması şartı arandı. Travma kaynaklı dişeti çekilmeleri, dişin servikal bölgesine

uzanan diş çürükleri, marjinal periodonsiyum boyunca drene olan endodontik lezyon ve vertikal kök kırıkları nedeni ile meydana gelen KAK ile üçüncü molar dişlerin çekimi sonrasında ikinci moların distalinde gözlenen KAK dikkate alınmadı. Radyografik kemik kaybı, ilgili dişlerin köklerinin orta üçlüsüne veya ilerisine kadar uzanmaktaydı. Bu hastalarda periodontal hastalık nedeni ile meydana gelen diş kaybı sayısı 4'e eşit ya da daha azdı. 6 mm ve üzerinde SCD ile birlikte Sınıf 2 veya Sınıf 3 furkasyon lezyonları mevcuttu.

### **3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri**

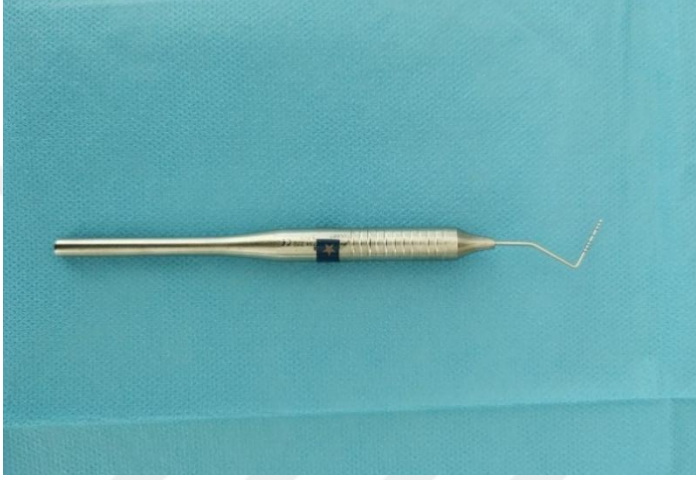
- Son 6 ay içerisinde herhangi bir sebeple periodontal tedavi görmemiş olması,
- Son 6 ay içerisinde herhangi bir sebeple antibiyotik tedavisi görmemiş olması,
- Periodontal sağlığı etkileyen herhangi bir sistemik hastalığa sahip olmaması (Kalp hastalıkları, diyabet, kan hastalıkları, vb.),
- Periodontal cep oluşumu bulunan bölgelerde yıkımı artıran lokal faktörlerin olmaması (dolgu, kron),
- Hastaların 18 yaş üstü veya 65 yaş altı olmaları
- Sigara kullanmıyor olmaları,
- Hastaların hamile olmamaları,
- Hastaların 3. molar dişleri dışında  $\geq 20$  dişe sahip olması,
- Araştırmaya katılmak için gönüllü olması.

### **3.1.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri**

- Herhangi bir nedenle son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmüş olanlar,
- Herhangi bir nedenle son 6 ay içerisinde antibiyotik kullanmış olanlar,
- Periodontal sağlığı etkilediği bilinen herhangi bir sistemik hastalığa sahip olanlar (Kalp hastalıkları, diyabet, kan hastalıkları, vb.),
- İmmün sistemi baskılayan ilaç kullananlar,
- Kemoterapi veya radyoterapi alan hastalar,
- Bulaşıcı hastalığa sahip olanlar,
- Hamile kadınlar,
- Sigara kullananlar,
- Araştırmaya katılmak istemeyenler

### 3.2. Araştırmada Kullanılan Klinik İndeks ve Ölçümler

Çalışmamız kapsamında uygun kriterlere sahip hastalardan, hastaların periodontal durumunu saptamak amacıyla yapılan klinik incelemede, ağız içinde mevcut olan dişlerin tamamından, Pİ (85), Gİ (86), SCD, KAK , SK (87) parametrelerine bakılmıştır. Ölçümler aynı klinisyen tarafından, Williams (Hu Friedy, Chicago, IL, USA) periodontal sondu kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 3.1. Williams periodontal sond.

#### 3.2.1. Plak İndeksi (PI Silness & Loe, 1964)(85)

Plak birikim seviyesini ölçmek için aşağıda belirtilen Silness-Loe Pİ (85) skorları kullanıldı. Ölçümler şu kriterlere bakılarak kaydedildi:

- 0: Bakteri plağı diş yüzeyinde bulunmuyor
- 1: Dişeti kenarına yapışan ince film halinde plak vardır ve sondun üstünde gezdirilmesi sırasında fark edilir.
- 2: Dişeti cebi ya da diş ve dişeti kenarlarında orta derecede yumuşak plak gözle görülebilir.
- 3: Dişeti cebi ya da komşu dişeti kenarında yoğun plak varlığı tespit edilir.

### **3.2.2. Sondlamada Cep Derinliği (SCD)**

Williams tipi bir sond kullanılarak ağızda bulunan her dişin 6 yzeyinden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midplatinal ve distopalatinal), sond dişin uzun aksına paralel olacak şekilde tutulup serbest dişeti kenarından cep tabanında direnç hissedilen noktaya kadar milimetrik ölçülerek kaydedildi.

### **3.2.3. Klinik Ataşman Kaybı (KAK)**

KAK ile ilgili ölçümler dişin 6 bölgesinden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midplatinal, distopalatinal) 0,5 mm çapında Williams tipi bir sond kullanılarak yapıldı. Bu seviye tespit edilirken mine- sement sınırından cep tabanına olan mesafe milimetrik olarak ölçüldü.

### **3.2.4. Gingival İndeks (Gİ) (Löe & Silness, 1963)**

Dişeti enflamasyonunun belirlenmesinde Löe-Silness Gİ (86) skorları kullanıldı.

Skorların karşılık geldiği klinik durumlar;

0: Dişeti sağlıklı

1: SK bulunmaz. Ödem varlığı, hafif enflamasyon, hafif renk değişikliği mevcuttur.

2: SK bulunur. Orta dereceli enflamasyonla beraber dişeti ödemi ve kızarıklık mevcuttur.

3: Spontane kanama görülür. Ülserasyon, şiddetli enflamasyon, belirgin kızarıklık mevcuttur.

### **3.2.5. Sondlamada Kanama**

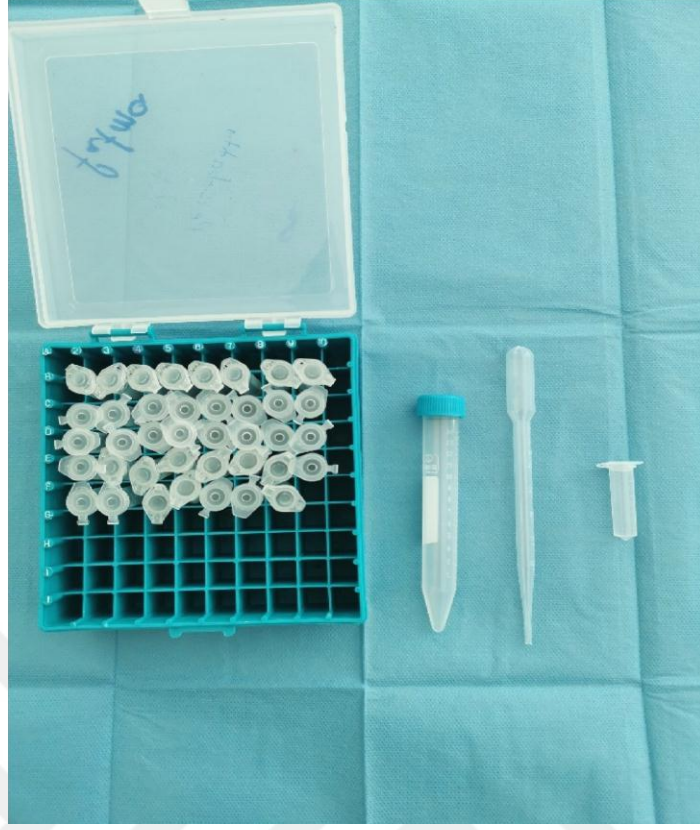
SK, SCD'nin tespitini takiben yaklaşık 10-15 saniye sonrasında kanama var (+) veya yok negatif (-) şeklinde değerlendirildi. Tüm ağız için SK skoru ise kanama görülen diş sayısının mevcut diş sayısını bölümünün 100 ile çarpılarak tespit edilmiştir (87).

### **3.3. Biyokimyasal Analiz için Örneklerin Elde Edilmesi**

Çalışmamızda hastaların tükürük örneklerinde; IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 seviyeleri değerlendirilmiştir.

#### **3.3.1. Tükürük Örneklerinin Toplanması**

Çalışmaya uygun seçilen gönüllü katılımcıların başlangıçta klinik ölçümler yapıldıktan 1 gün sonra tükürük örnekleri uyarılmamış tükürük tekniği ile sabah saatlerinde alınmıştır. Uyarılmamış tükürük örneklerinin elde edilmesi için, hastaların örnek toplanmasından en az 1 saat önce yemek yememiş, dişlerini fırçalamamış, sıvı tüketmemiş, ağız gargarası kullanmamış ve sakız çiğnememiş olmaları istendi. Hastalar gözleri açık, başı hafifçe öne eğik şekilde rahatça oturtuldu ve (uyarılmadan tükürük toplanması için) 5 dakika dinlenmesi ve orofasiyal hareketleri en aza indirmesi söylendi. Tükürüğün ağız tabanında birikmesine izin verilir ve denek her 60 saniyede bir önceden tartılmış veya derecelendirilmiş test tüpüne tükürür. Tükürük steril bir kaba en az 5 ml olacak şekilde toplandı (88). Toplanan tükürük örnekleri pasteur pipetler yardımıyla falkon tüplerine aktarılarak 10 dakika boyunca 1500rpm'de santrifüj edildi (19) ve tabanda oluşan çökeltiye dokunulmadan yüzeydeki berrak sıvı (süpernatant) pasteur pipetlerle 1,5 ml alınarak eppendorf tüplerine aktarıldı. Tükürük örneklerinde kan ve besin artığı gibi yabancı maddelerin bulunduğu durumlarda örnekler yenilendi. Toplanan tükürük örnekleri analiz gününe kadar -80°C'de saklandı.



**Şekil 3.2.** Sırası ile: Tükürük örneklerinin depolanması, tükürük örneklerinin alınması için kullanılan falkon tüp, pastör pipeti ve eppendorf tüpü



**Şekil 3.3.** Tükürük örneklerinin santrifüj edildiği santrifüj cihazı

### **3.3.2. Tükürük Örneklerinin Hazırlanması**

Analiz günü, -80°C’de saklanan tükürük örnekleri oda ısısında tamamen çözülünceye kadar bekletildi. Daha sonra tükürük örnekleri ELISA için direkt olarak kullanıldı.

### **3.4. Tükürük Örneklerinin Biyokimyasal Analizi**

Tükürük örneklerinin IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 seviyeleri ölçümü, FARMASİNA Tıbbi ve Kimyevi Ürünler San. Tic. Ltd. Şti.’nin laboratuvarları tarafından ELISA kitler kullanılarak gerçekleştirildi.

#### **3.4.1. Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$ ve MMP-8 Seviyelerinin Belirlenmesi**

Tüm reaktifler, standard çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Test oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

Test için gerekli şerit sayısı belirlendi. Şeritler kullanım için çerçevelere yerleştirildi. Kullanılmayan şeritler 2-8°C’de saklandı.

Standart kuyucuğa 50 $\mu$ l standard çözelti eklendi.

Örnek kuyucuklarına 40 $\mu$ l örnek eklendi ve ardından örnek kuyucuklarına 10 $\mu$ l antikor (IL-1 Beta için anti-IL-1B antikor, IL-40 için anti-C17orf99 antikor, MMP-8 için anti-MMP-8 antikor) eklendi, ardından örnek kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 $\mu$ l streptavidin-HRP eklendi. Her kit için aynı işlem yapıldıktan sonra iyice karıştırıldı. Plaka kapatıldı ve 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.

Kapak çıkarıldı ve plaka yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Otomatik yıkama için tüm kuyucuklar aspire edildi ve yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkandı. Plaka kurulandı.

Her bir kuyucuğa 50 $\mu$ l substrat çözeltisi A eklendi ve ardından her bir kuyucuğa 50 $\mu$ l substrat çözeltisi B eklendi. Yeni bir kapatıcı ile kapatılmış plaka karanlıkta 37°C’de 10 dakika inkübe edildi.

Her bir kuyucuğa 50 $\mu$ l durdurma solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya dönüştü.

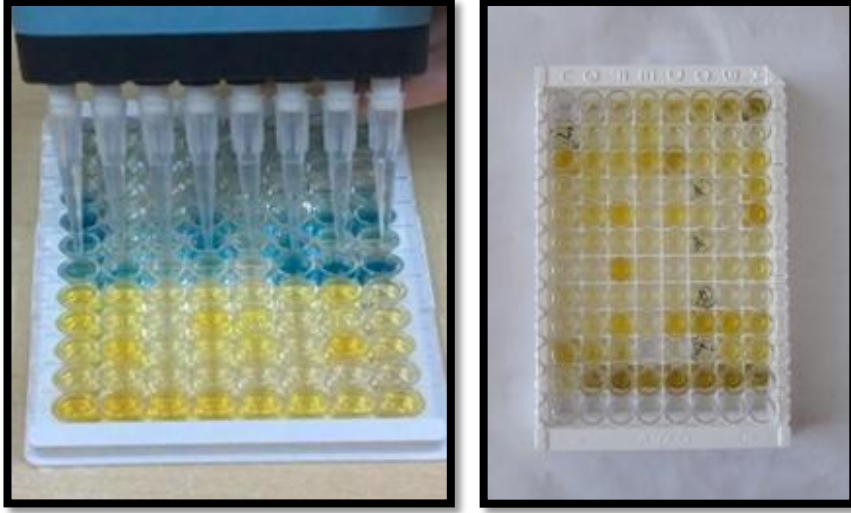
Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanarak her bir kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi.



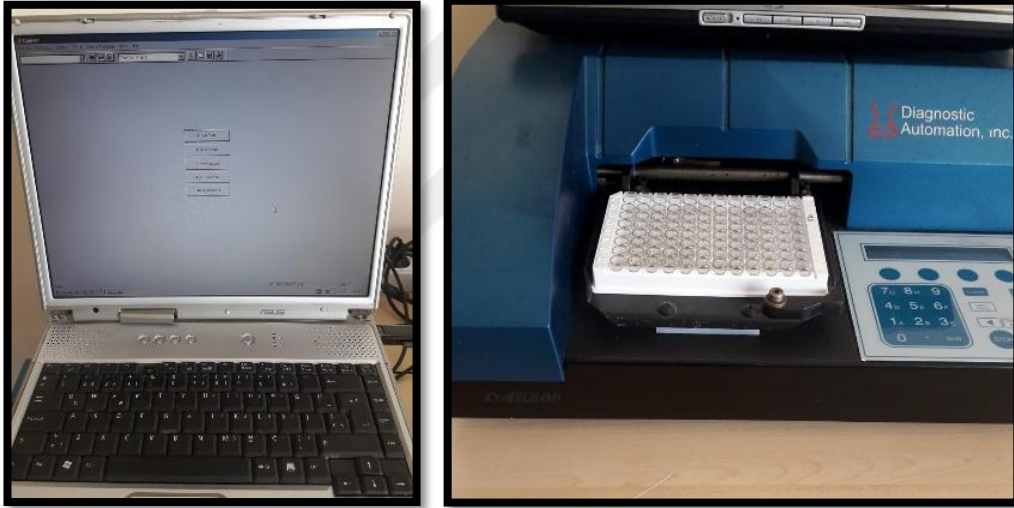
**Şekil 3.4.** Mikropilakanın yıkayıcıda yıkanması ve çalkalayıcıda inkübe edilmesi



**Şekil 3.5.** Mikropilakaların inkübasyona bırakıldığı fırın



Şekil 3.6. Durulama solüsyonunun eklenmesi ile rengin maviden sarıya dönmesi



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

### 3.5. İstatistiksel Analiz

S, G ve P grupları için yaş, cinsiyet, klinik parametreler (Pİ, Gİ, SCD, KAK, SK), sitokin (IL-40, IL-1 $\beta$ ) ve enzim (MMP-8) miktarları bakımından farklılıklar ve ilişkiler istatistiksel analizler yardımıyla incelenmiştir.

**İstatistiksel yöntem:** Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde ANOVA (Tukey test), Kruskal-wallis, Bonferroni düzeltmesi ile mann-whitney u test

kullanıldı. Nitel bağımsız verilerin analizinde ki-kare test, ki-kare test koşulları sağlanmadığında fischer test kullanıldı. Korelasyon analizinde spearman korelasyon analizi kullanıldı. Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8'in potansiyel tanısal değerini tanımlamak için Receiver Operating Characteristic (ROC) eğrisi analizi ve eğri altındaki alan (AUC) hesaplanmıştır. Analizlerde SPSS 28.0 programı kullanılmıştır.  $p < 0,05$  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 40 periodontal olarak sağlıklı, 40 gingivitis, 40 periodontitis (Evre III derece B) olmak üzere toplam 120 birey dahil edildi. Bireylerin başlangıç tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, KAK, SK değerleri kaydedilerek, tükürük örnekleri toplandı. Toplanan örneklerde IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 düzeyleri ELISA yöntemiyle tespit edildi. Elde edilen değerler karşılaştırmalı olarak incelendi.

### 4.1. Demografik Bulgular

Çalışmaya katılan bireylerin yaşları 18 ile 63 arasında değişmektedir ve yaş ortalamaları 34,8 $\pm$ 11,5'tir. S grubundaki bireylerin yaş aralığı 18 ile 53 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları 29,1 $\pm$ 8,5, G grubundaki bireylerin yaş aralığı 18 ile 50 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları 29,1 $\pm$ 7,8, P grubundaki bireylerin yaş aralığı ise 30 ile 63 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 46,4 $\pm$ 7,9'dur. P grubunda hastaların yaş ortalaması S grubu ve G grubundan anlamlı (p <0.05) olarak daha yüksek bulundu. Hastaların yaş ortalamaları bakımından S ve G grupları arasında anlamlı (p > 0.05) farklılık görülmedi. (Tablo 4.1.)

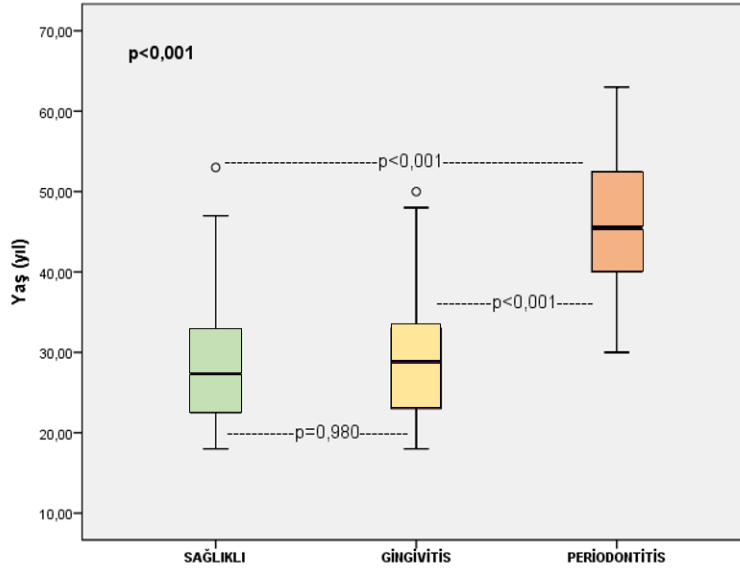
Çalışmaya katılan bireylerin yüzde 41,7'sini erkekler, yüzde 58,3'ünü ise kadınlar oluşturmuştur. S grubundaki bireylerin yüzde 40'ı erkek (16 birey), yüzde 60'ı kadın (24 birey), G grubundaki bireylerin yüzde 32,5'i erkek (13 birey), yüzde 67,5'i kadın (27 birey), P grubundaki bireylerin ise yüzde 52,5'i erkek (21 birey), yüzde 47,5'i (19 birey) kadınlardan oluşmaktadır. S grubu, G ve P grupları arasında cinsiyet dağılımı anlamlında (p > 0.05) farklılık görülmedi. (Tablo 4.1.)

**Tablo 4.1.** Tüm grupların demografik özellikleri

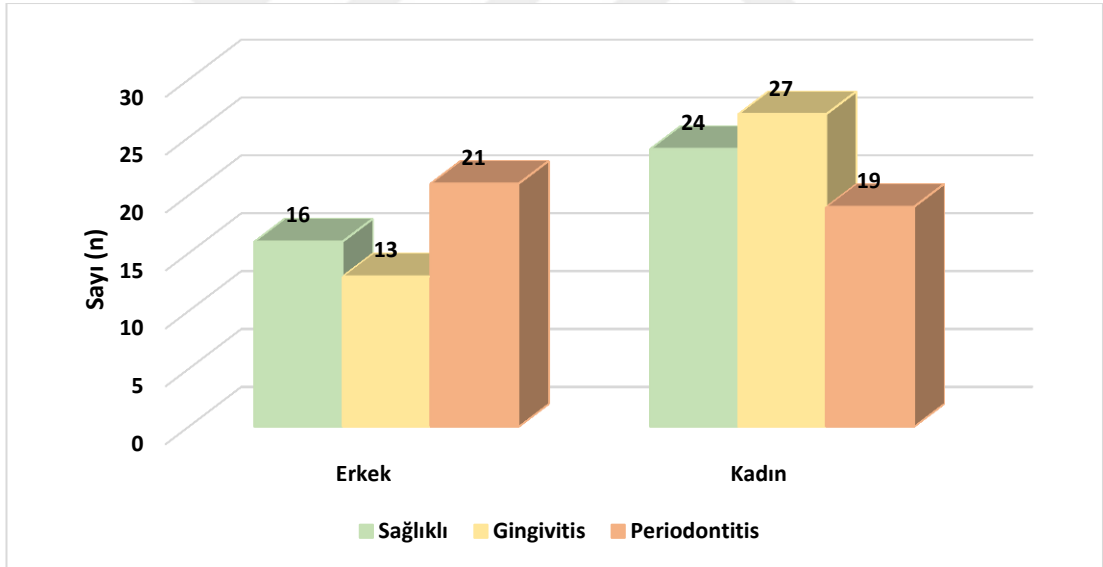
		S	G	P	p
Yaş	Ort. $\pm$ ss	29.1 $\pm$ 8.5	29.1 $\pm$ 7.8	46.4 $\pm$ 7.9* <sup>#</sup>	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	27.5	29.0	45.5	
Cinsiyet	Erkek n-%	16 40.0%	13 32.5%	21 52.5%	0.186 <sup>X<sup>2</sup></sup>
	Kadın n-%	24 60.0%	27 67.5%	19 47.5%	

<sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / <sup>X<sup>2</sup></sup> Ki-kare test

\*Sağlıklı grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05), <sup>#</sup> Gingivitis grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05)



Şekil 4.1. Çalışma gruplarına göre yaş dağılımı

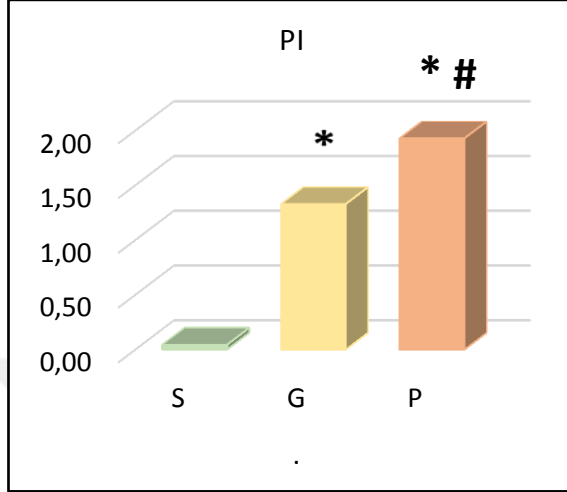


Şekil 4.2. Çalışma gruplarına göre cinsiyet dağılımı

#### 4.2. Gruplar Arası Klinik Parametlerin Karşılaştırılması

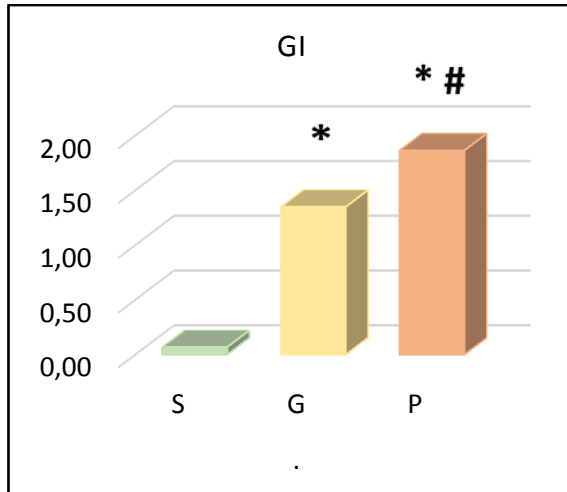
Sağlıklı bireyler, gingivitise sahip bireyler ve periodontitise sahip bireylerin klinik parametreleri incelenmiştir.

S grubun PI değerlerinin ortalaması  $0,04 \pm 0,04$  G grubunun PI değerler ortalaması  $1,33 \pm 0,35$  ve P grubunun PI değerler ortalaması  $1,93 \pm 0,27$ 'dir. P grubunda PI, S grubu ve G grubundan anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak daha yüksek bulundu. G grubunda PI, S grubundan anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak daha yüksek görüldü. (Tablo 4.2.)



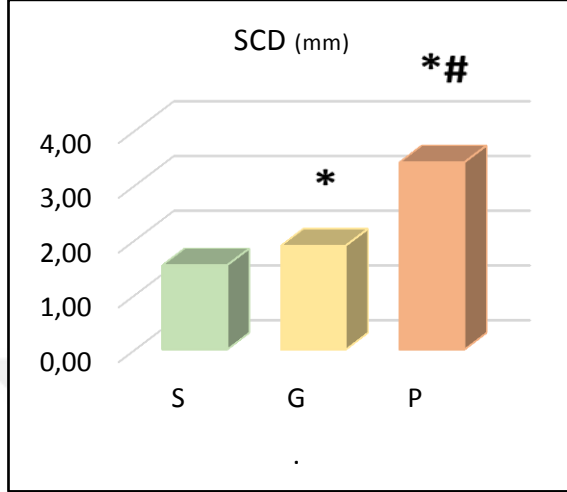
**Şekil 4.3.** Çalışma gruplarına göre PI ortalama değerler grafiği. \*Sağlıklı grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı ( $p < 0,05$ ), # Gingivitis grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı ( $p < 0,05$ )

S grubun GI değerler ortalaması  $0,07 \pm 0,04$ , G grubunun GI değerler ortalaması  $1,35 \pm 0,27$  ve P grubunun GI değerlerinin ortalaması  $1,86 \pm 0,24$ 'tür. P grubunda GI değeri S grubu ve G grubundan, G grubu da S grubundan anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak daha yüksek olduğu tespit edildi. (Tablo 4.2.)



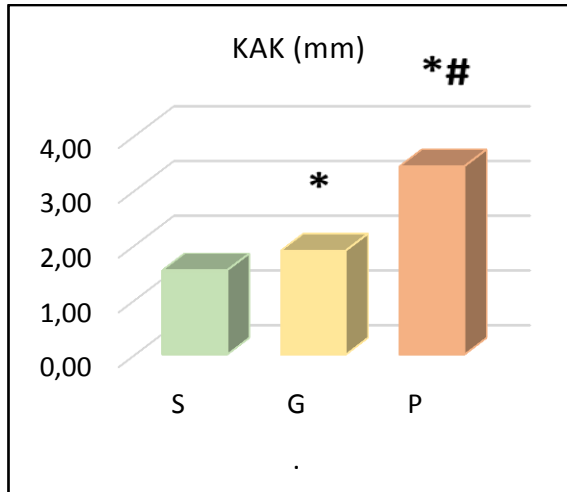
**Şekil 4.4.** Çalışma gruplarına göre GI ortalama değerler grafiği \*Sağlıklı grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı ( $p < 0,05$ ), # Gingivitis grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı ( $p < 0,05$ )

S grubun SCD ortalama değeri  $1,54 \pm 1,16$ , G grubunun SCD ortalama değeri  $1,90 \pm 0,29$  ve P grubunun SCD ortalama değeri  $3,42 \pm 0,45$ 'tir. P grubunda SCD ortalama değeri S grubu ve G grubundan, G grubunun SCD ortalama değeri ise S gruptan anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak daha yüksek bulundu. (Tablo 4.2.)



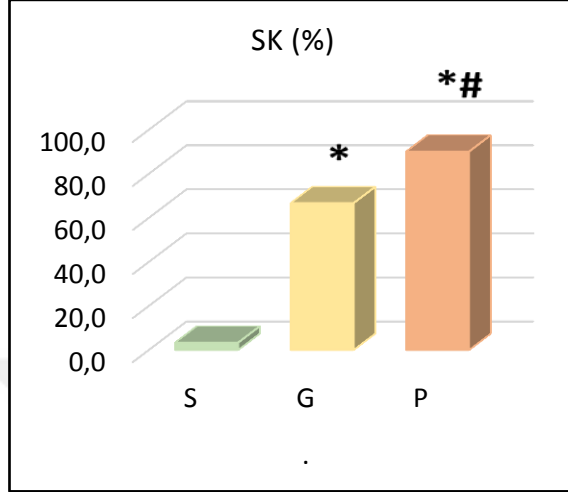
**Şekil 4.5.** Çalışma gruplarına göre SCD ortalama değerler grafiği \*Sağlıklı grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı ( $p < 0,05$ ), # Gingivitis grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı ( $p < 0,05$ )

S grubun KAK ortalama değeri  $1,54 \pm 0,16$ , G grubunun KAK ortalama değeri  $1,90 \pm 0,29$  ve P grubunun KAK ortalama değeri  $3,44 \pm 0,44$ 'tür. P grubunda KAK ortalama değeri S ve G grubundan, G grubunun KAK ortalama değeri ise S grubundan anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak daha yüksek olduğu görüldü (Tablo 4.2.)



**Şekil 4.6.** Çalışma gruplarına göre KAK ortalama değerler grafiği \*Sağlıklı grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı ( $p < 0,05$ ), # Gingivitis grupta karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı ( $p < 0,05$ )

SK değerlerinin yüzdelik ortalaması S grubunda 3,3±1,6, G grubunda 66,6±13,4 iken P grubunda 90,0±17,1 olarak gözlemlenmektedir. P grubunda SK değeri S ve G grubundan, G grubunun SK değeri S grubundan anlamlı (p <0.05) olarak daha yüksek görüldü. (Tablo 4.2.)



**Şekil 4.7.** Çalışma gruplarına göre SK ortalama değerler grafiği \*Sağlıklı grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05), # Gingivitis grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p < 0,05)

**Tablo 2.2.** Klinik Parametrelerin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması

		S	G	P	p
PI	Ort.±ss	0.04 ± 0.04	1.33 ± 0.35*	1.93 ± 0.27*#	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	0.04	1.32	1.94	
GI	Ort.±ss	0.07 ± 0.04	1.35 ± 0.27*	1.86 ± 0.24*#	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	0.06	1.31	2.00	
SCD (mm)	Ort.±ss	1.54 ± 0.16	1.90 ± 0.29*	3.42 ± 0.45*#	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	1.50	1.88	3.39	
KAK (mm)	Ort.±ss	1.54 ± 0.16	1.90 ± 0.29*	3.44 ± 0.44*#	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	1.50	1.89	3.41	
SK (%)	Ort.±ss	3.3 ± 1.6	66.6 ± 13.4*	90.0 ± 17.1*#	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	3.0	66.5	100.0	

<sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

\*Sağlıklı grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05), \* Gingivitis grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05)

### 4.3. Gruplar Arası Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$ ve MMP-8 Seviyelerinin Karşılaştırılması

Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 düzeyleri S, G ve P grupları arasında karşılaştırıldı. (Tablo 4.3.).

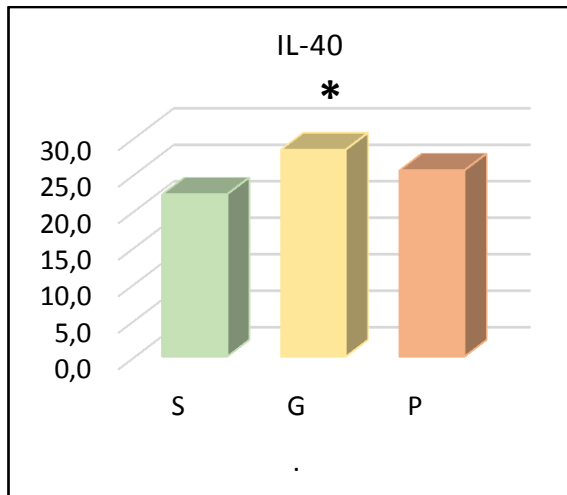
**Tablo 4.3.** Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 Seviyelerinin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması

		S	G	P	p
IL-40 (pg/ml)	Ort. $\pm$ ss	22.7 $\pm$ 7.3	28.3 $\pm$ 10.4*	25.5 $\pm$ 5.1	0.003 <sup>A</sup>
	Medyan	21.9	27.7	25.2	
IL-1 $\beta$ (pg/ml)	Ort. $\pm$ ss	860 $\pm$ 329	1140 $\pm$ 506*	1474 $\pm$ 259* <sup>#</sup>	0.000 <sup>K</sup>
	Medyan	792.9	1158.5	1452.3	
MMP-8 (pg/ml)	Ort. $\pm$ ss	1.8 $\pm$ 0.5	2.0 $\pm$ 0.7	2.1 $\pm$ 0.5*	0.016 <sup>A</sup>
	Medyan	1.7	1.9	2.2	

<sup>A</sup> ANOVA / <sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

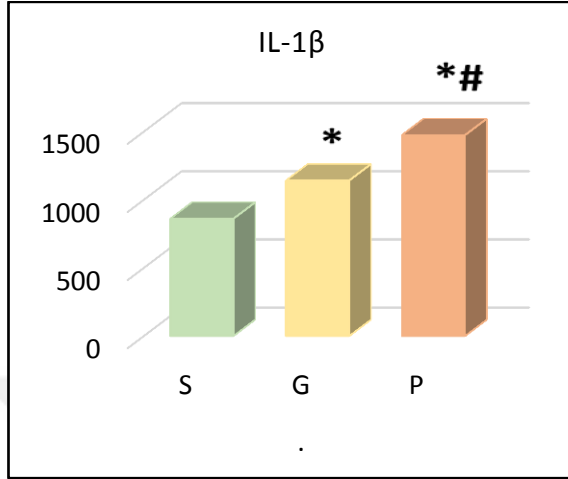
\*Sağlıklı grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05), # Gingivitis grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05)

Tükürük IL-40 düzeylerinin ortalaması ise S grubunda 22.2 $\pm$ 7.3 pg/ml, G grubunda 28.3  $\pm$ 10.4pg/ml ve P grubunda ise 25,5 $\pm$ 5,1 pg/ml olarak bulunmuştur. G grubunda IL-40 değeri S grubundan anlamlı (p<0.05) olarak daha yüksek izlendi. P grubunda IL-40 değeri S ve G grubundan anlamlı (p> 0.05) farklılık görülmedi (Tablo 4.3.).



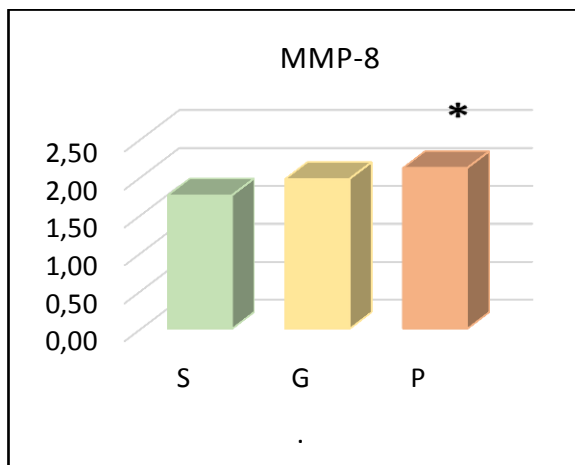
**Şekil 4.8.** Tükürük IL-40 düzeylerinin çalışma grupları arasında karşılaştırılması \*Sağlıklı grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05)

Tükürük IL-1 $\beta$  düzeylerinin ortalaması S grubunda 860 $\pm$ 329 pg/ml, G grubunda 1140 $\pm$ 506 pg/ml ve P grubunda ise 1474 $\pm$ 259 pg/ml'dir. P grubunda IL-1 $\beta$  seviyesi S ve G grubundan anlamlı (p<0.05) olarak daha yüksekti. G grubunda IL-1 $\beta$  seviyesi S grubundan anlamlı (p <0.05) olarak daha yüksekti. (Tablo 4.3.)



**Şekil 4.9.** Tükürük IL-1 $\beta$  düzeylerinin çalışma grupları arasında karşılaştırılması \*Sağlıklı grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05), # Gingivitis grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p < 0,05)

Tükürük MMP-8 düzeylerinin ortalaması ise S grubunda 1,8 $\pm$ 0,5 pg/ml, G grubunda 2,0 $\pm$ 0,7 pg/ml ve P grubunda ise 2,1 $\pm$ 0,5 pg/ml olarak bulunmuştur. Tükürük MMP-8 düzeyleri; P grubunda S grubundan anlamlı (p <0.05) olarak daha yüksek olmasına rağmen G grubunda MMP-8 düzeyleri S ve P grubundan anlamlı (p> 0.05) olarak farklı değildi. (Tablo 4.3.)



**Şekil 4.10.** Tükürük MMP-8 düzeylerinin çalışma grupları arasında karşılaştırılması \*Sağlıklı grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı (p <0,05)

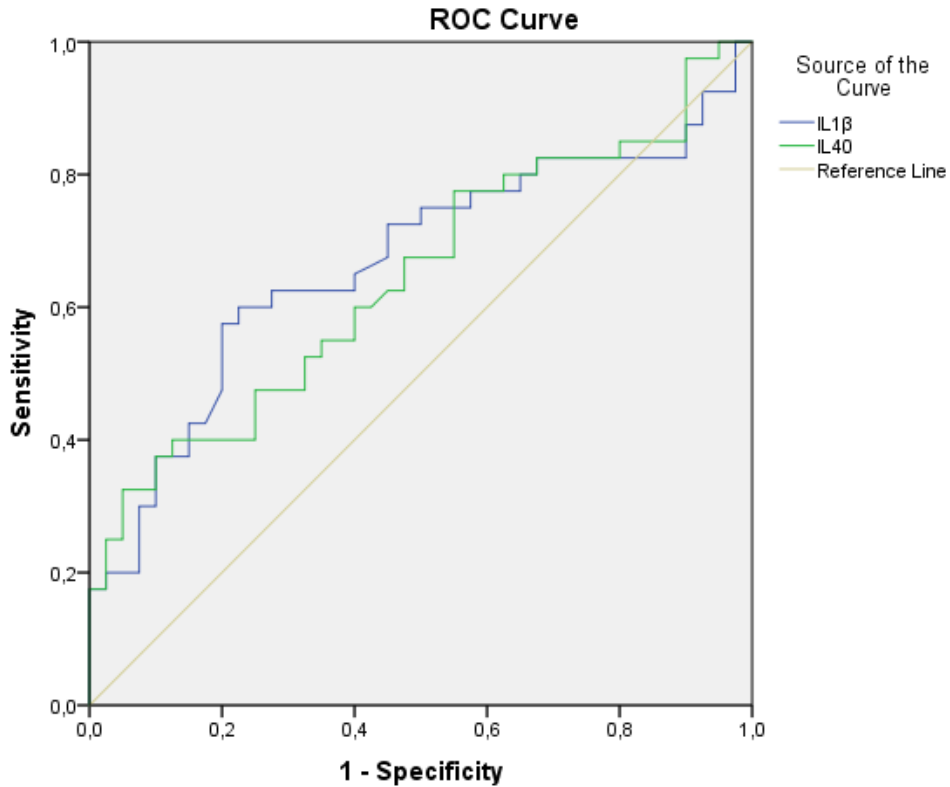
### 4.3.1. ROC Analizi

ROC analizi ile IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 için iki grubu ayırıcı kesme değerleri belirlenmiş, AUC hesaplanmıştır. Değişkenlerin tanısal değerini belirlemek üzere duyarlılık (sensivity), seçicilik (specifity), AUC değeri elde edilmiştir.

Gingivitis tanısında IL-40 için sınır değer 23,7 pg/ml alındığında duyarlılık %67,5, seçicilik %52,5, AUC değeri 0,644 olarak bulunmuştur. IL-1 $\beta$  için sınır değer 1015,875 pg/ml alındığında duyarlılık %62,5, seçicilik %62,5, AUC değeri 0,668 olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.4.** G grubunu S grubundan ayırmada IL-40 ve IL-1 $\beta$ 'nın tanısal etkinliği için ROC analizi ile elde edilen veriler

	AUC (95%)	Sınır Değer	p	Duyarlılık (%)	Seçicilik (%)
<b>IL-40</b>	0,644 (0,522-0,766)	23,7	0,027	67,5	52,5
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	0,668 (0,546-0,789)	884,1600	0,01	62,5	62,5



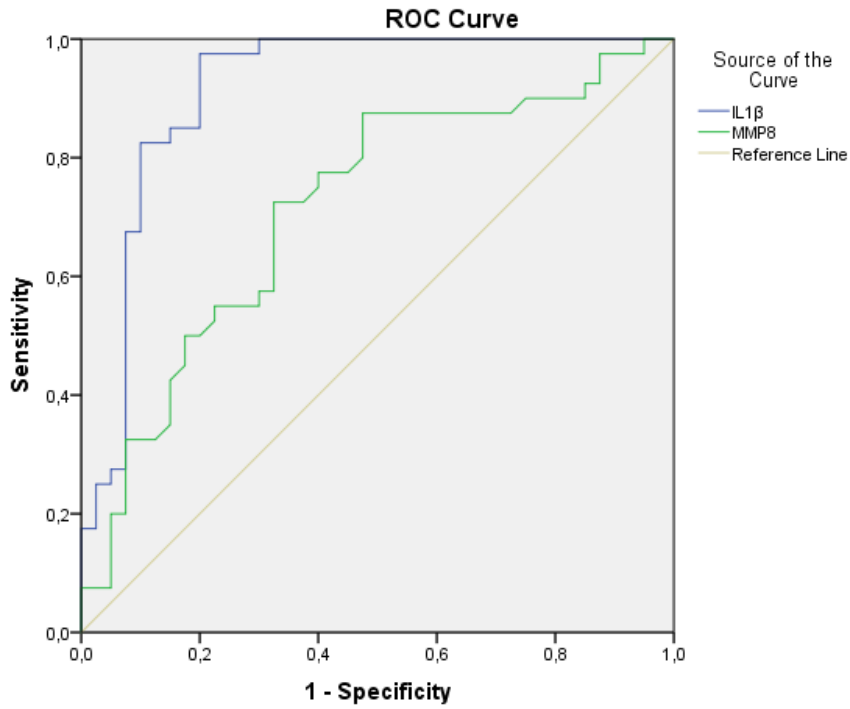
Diagonal segments are produced by ties.

**Şekil 4.11.** IL-40 ve IL-1 $\beta$  için ROC eğrisi

Periodontitis tanısında IL-1 $\beta$  için sınır değeri 1213,84 pg/ml alındığında duyarlılık %85, seçicilik %85, AUC değeri 0,916 olarak bulunmuştur. MMP-8 için sınır değeri 1,895 pg/ml alındığında duyarlılık %72,5, seçicilik %67,5, AUC değeri 0,716 olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.5.** P grubunu S grubundan ayırmada IL-1 $\beta$  ve MMP-8'in tanısal etkinliği için ROC analizi ile elde edilen veriler

	AUC (95%)	Sınır Değeri	p	Duyarlılık (%)	Seçicilik (%)
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	0,916 (0,848-0,983)	1213,84	0,000	85	85
<b>MMP-8</b>	0,716 (0,602-0,830)	1,895	0,001	72,5	67,5

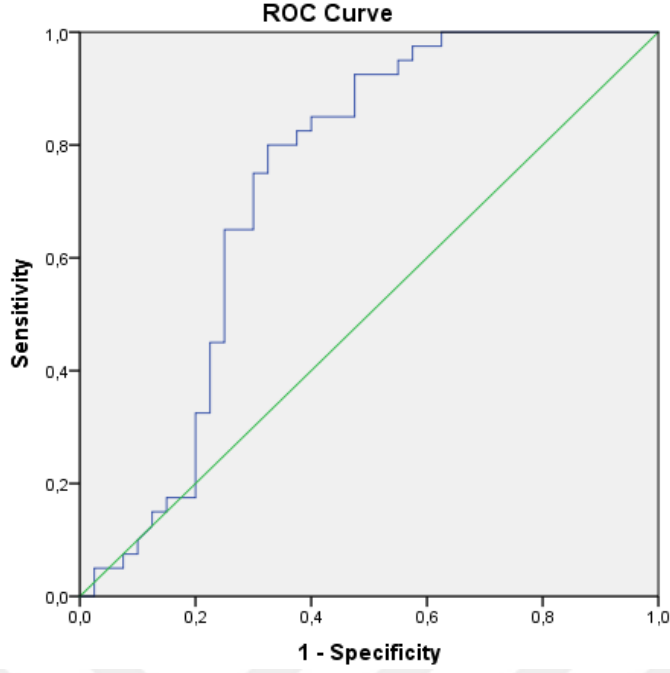


**Şekil 4.12.** IL-1 $\beta$  ve MMP-8 için ROC eğrisi

Periodontitisi gingivitisten ayırmada kullanılacak IL-1 $\beta$  için sınır değeri 1301,66 pg/ml alındığında duyarlılık %80, seçicilik %67,5, AUC değeri 0,732 olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.6.** P grubunu G grubundan ayırmada IL-1 $\beta$ 'nin tanısal etkinliği için ROC analizi ile elde edilen veriler

	AUC (95%)	Sınır Değeri	p	Duyarlılık (%)	Seçicilik (%)
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	0,732 (0,614-0,849)	1301,66	0,000	80	67,5



Şekil 4.13. IL-1 $\beta$  için ROC eğrisi

#### 4.4. Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$ ve MMP-8 Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

Yaş ile PI, GI, SCD, KAK, SK değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. Yaş ile IL-1 $\beta$  değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenirken MMP-8 değeri arasında anlamlı ( $p > 0.05$ ) korelasyon gözlenmemiştir. (Tablo 4.4.)

PI değeri ile GI, SCD, KAK, SK değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. PI değeri ile IL-1 $\beta$ , MMP-8 değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. (Tablo 4.4.)

GI değeri ile SCD, KAK, SK, değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. GI değeri ile IL-1 $\beta$ , MMP-8 değerleri arasında anlamlı ( $p > 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. (Tablo 4.4.)

SCD değeri ile KAK, SK değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. SCD değeri ile tükürükteki IL-1 $\beta$ , MMP-8 değerleri arasında da anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. (Tablo 4.4.)

KAK değeri ile SK değeri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. KAK değeri ile IL-1 $\beta$ , MMP-8 değeri arasında da anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. (Tablo 4.4.)

SK değeri ile IL-1 $\beta$ , MMP-8 değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. (Tablo 4.4.)

IL-40 ile SCD, KAK, SK değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmesine rağmen yaş, PI, GI değerleri arasında anlamlı ( $p > 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmemiştir. IL-40 ile IL-1 $\beta$  ve MMP-8 değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. (Tablo 4.4.)

IL-1 $\beta$  değeri ile MMP-8 değeri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmiştir. (Tablo 4.4.)

**Tablo 4.4.** Tükürük IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 seviyeleri ve klinik parametreler arasındaki korelasyonlar

		Yaş	PI	GI	SCD (mm)	KAK (mm)	SK (%)	IL-40	IL-1 $\beta$
<b>PI</b>	r	0.516							
	p	<b>0.000</b>							
<b>GI</b>	r	0.515	0.887						
	p	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>						
<b>SCD (mm)</b>	r	0.521	0.822	0.846					
	p	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>					
<b>KAK (mm)</b>	r	0.522	0.822	0.845	1.000				
	p	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>				
<b>SK (%)</b>	r	0.501	0.879	0.979	0.822	0.822			
	p	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>			
<b>IL-40</b>	r	0.036	0.165	0.161	0.197	0.194	0.181		
	p	0.694	0.071	0.079	<b>0.031</b>	<b>0.033</b>	<b>0.047</b>		
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	r	0.350	0.514	0.513	0.579	0.578	0.532	0.700	
	p	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	
<b>MMP-8</b>	r	0.160	0.265	0.287	0.315	0.314	0.309	0.696	0.727
	p	0.081	<b>0.003</b>	<b>0.002</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.001</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>Spearman Korelasyon</b>									
Koyu punto ile yazılan değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ )									

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, kesitsel bir yöntemle (cross-sectional) periodontal olarak sağlıklı, gingivitis ve evre III derece B periodontitisli 120 bireyin tükürük IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 seviyelerinin belirlenmesi, karşılaştırılması ve bu sitokinlerin klinik parametreler ile olası korelasyonlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Periodontal hastalık, belirli bakteri türleri ile konakçı bağışıklık yanıtının bileşenleri arasındaki etkileşimin neden olduğu periodontal ligamentin kaybına ve alveol kemiğin yıkımı ile ilerleyen enflamatuvar bir hastalıktır (1, 81). Diş ile periodontal cep arasındaki arayüzde sayısız metabolik yan ürünün, yıkıcı hücresel enzimin ve diğer doku yıkım araçlarının salınımını kronik periodontal enfeksiyonlar tetikler (2). Periodontal hastalıklar için ana etken mikroorganizmaların savunma sistemini harekete geçirerek dolaylı yoldan doku yıkımına neden olmalarıdır. Büyük ölçüde doku yıkımında sorumluluk, periodonsiyumda koruma ve savunma görevini üstlenen konak immün sistemi hücrelerindedir (44). Mikrobiyal saldırı subgingival plaktaki bakteriler nedeniyle oluşarak artmış enflamatuvar sitokin, prostaglandin ve MMP'lerle karakterize konak-immün enflamatuvar cevabı meydana getirir (89). Çalışma gruplarımız, IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8'in periodontal enflamasyonun şiddeti ile olan ilişkisini değerlendirebilmek için periodontitis, gingivitis ve sağlıklı olacak şekilde oluşturulmuştur.

Çevresel ve kazanılmış risk faktörlerinden diyabet, kardiyovasküler hastalık, osteoporoz, solunum yolu hastalıkları, romatoid artrit, belirli kanserler, böbrek hastalığı, demans ve sigara kullanımı gibi faktörler konak cevabını etkileyerek periodontal hastalığın şiddetinin artmasına sebep olabilmektedir (43, 90, 91). Bununla beraber sigara içmek periodontal enflamasyonun klinik ve immünolojik belirtilerini de maskelediği için (90, 92) çalışmamıza sistemik olarak sağlıklı ve sigara içmeyen bireyler dahil edilmiştir.

Periodontitisin biyobelirteçleri üzerine yapılan araştırmaların başlıca üç hedefi vardır: periodontal doku yıkımı meydana gelmeden önce risk altındaki hastaları belirlemek; hastalık aktivitesini, ilerleyişini saptamak ve yeni tedavi edici hedefler bulmaktır (79). Çalışmalar, biyobelirteçlerin periodontal doku yıkımının klinik etkilerinden çok önce DOS ve tükürükte mevcut olduğunu göstermiştir (93).

Daha önce kan ve DOS tercih edilen biyolojik numunelerken, son zamanlarda tükürük, serum ve DOS'a benzer bir mediatör profiline sahip, kolayca erişilebilir bir oral sıvı olmasından dolayı dikkatleri üstüne çekmektedir (79). Çalışmamıza katılan bireylerden uyarılmamış tam tükürük örneği toplanmıştır. Tam tükürük en sık çalışılan doku sıvısıdır çünkü toplanması kolay, noninvaziv ve özel ekipmana ihtiyaç duymadan hızlı bir şekilde elde edilebilir. Ayrıca uyarımlı veya uyarılmamış toplanabilir. Uyarılmamış tam tükürük genellikle deneğin başının öne eğilerek tükürüğün ağzın ön bölgesine doğru hareket ettirildiği ve biriken tükürüğün geniş delikli steril bir kaba salgılandığı "boşaltma" yöntemiyle toplanır. Uyarılmış bütün tükürük genellikle çiğneme hareketiyle (örneğin parafin çiğneyen bir denekten) veya tat alma uyarımıyla (örneğin deneğin diline sitrik asit veya ekşi şeker damlatılmasıyla) elde edilir ve bir tüpe boşaltılır. Uyarılmış tam tükürük tanısal uygulamalar için daha az uygundur çünkü tükürüğü uyarmak için kullanılan yabancı maddeler sıvı pH'ını modüle etme eğilimindedir ve genellikle tükürük salgısının su fazını uyarır, bu da ilgilenilen proteinlerin konsantrasyonunda bir seyrelmeye neden olur (94-96). Uyarılmamış tükürük, uyarılmış tükürüğe göre daha yüksek konsantrasyonlarda tanısal biyobelirteç içerir (81).

ELISA, fazla ekipman gerektirmeden bir analitin tespiti ve kantitatif veya kalitatif analizi için kullanılan hassas ve spesifik bir biyokimya testidir. Analit, herhangi bir spesifik madde, bir protein veya birden fazla proteinin daha karmaşık bir bileşimi olabilir. Monoklonal veya poliklonal antijenlerin spesifik antikörlerinin üretimi ELISA'nın en önemli avantajıdır. Bu teknikte, tespit antikörleri radyoizotoplarla etiketlenebilmekte ve radyoaktiviteyi ölçerek bir proteinin miktarını belirlemenin dolaylı bir yolunu sağlamaktadır. Alternatif olarak, biyolojik enzimlere kimyasal olarak bağlı antikörler ile uygun substrat kullanıldığında üretilen sinyal ölçülerek dolaylı miktar belirleme gerçekleştirilebilir. Benzer şekilde, floresan etiket teknolojisi, floresan kuantum verimlerini ölçerek ve bir standartla karşılaştırarak floresan bir boya ile kimyasal olarak bağlanmış proteinin dolaylı olarak ölçülmesini sağlar (97). Genel olarak ELISA, iyi bir duyarlılığa sahiptir. ELISA tekniği; direkt, indirekt, sandviç ve kompetitif olmak üzere farklı türlere sahiptir. Sandviç ELISA'lar diğer tüm ELISA'lardan 2-5 kat daha duyarlı olmasından dolayı daha yaygın kullanılmaktadır (98). Bu nedenle çalışmamızda da tükürük IL ve enzim seviyelerinin tespiti için ELISA yöntemi kullanılmıştır.

Hastaların mevcut oral hijyen durumlarının, periodontal hastalığın şiddetinin, meydana gelen doku yıkımının tespiti ve hasta gruplarını ayırmak için literatürle uyumlu olarak Pİ, Gİ, SK, SCD ve KAK ölçümleri yapılmıştır (85, 86, 99). Literatürde daha çok kullanılması ve diğer çalışmalarla karşılaştırabilme imkânı vermesi nedeniyle, bu indeksler tercih edilmiştir. Standardizasyonun sağlanması açısından çalışmada yapılan klinik ölçümler ve tükürük örneklerinin toplanması, tek bir araştırmacı (Fatma Köksel Babun) tarafından yapılmıştır.

Sitokinler, anabolik ve katabolik aktiviteler arasında hassas bir denge gerektiren bir süreç olan doku homeostazının korunmasında çok önemli roller oynarlar. Özellikle IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 gibi enflamatuvar sitokinler hastalıklı periodontal dokularda mevcuttur ve bunların sınırsız üretimi kronik lökosit alımında ve doku yıkımında rol oynuyor gibi görünmektedir. Sitokin üretiminin veya profilinin izlenmesi, bir bireyin periodontal hastalık durumunu ve/veya hastalığa yatkınlığını teşhis etmemize izin verebilir (57).

Bu çalışma periodontitisli bireylerde IL-40'in rolü ve hastalık şiddeti ile ilişkisinin, tükürük analizi yoluyla araştırıldığı ayrıca periodontal klinik parametrelerle ilişkisinin yorumlandığı ilk çalışma özelliği taşımaktadır. Bilgimiz dahilinde literatürde IL-40'in daha önce periodontal hastalıkla ilişkisinin incelendiği herhangi bir çalışma rapor edilmemiştir. Çalışmamızda kontroller de dahil olmak üzere tüm tükürük örneklerinde IL-40 ölçülebildi. Bu çalışmada tükürük IL-40 düzeylerinin ortalaması S grubunda 22.2 $\pm$ 7.3 pg/ml, G grubunda 28.3 $\pm$ 10.4pg/ml ve P grubunda ise 25,5 $\pm$ 5,1 pg/ml olarak bulundu. Tükürük IL-40 düzeyleri ile SCD, KAK, SK, IL-1 $\beta$  MMP-8 değeri arasında anlamlı (p <0.05) pozitif korelasyon gözlemlendi. G grubunda IL-40 değeri S grubundan anlamlı (p<0.05) olarak daha yüksekti. P grubunda IL-40 değeri S ve G grupları ile benzer bulunmuştur. (p> 0.05) G grubu ile S grubu arasında istatistiksel olarak fark çıkması üstüne ROC analizi yapılmıştır. Gingivitis tanısında IL-40 için sınır değer 23,7 pg/ml alındığında duyarlılık %67,5, seçicilik %52,5, AUC değeri 0,644 olarak bulunmuştur. Bu değerler IL-1 $\beta$ 'nin analiz sonuçlarıyla (duyarlılık %62,5, seçicilik %62,5, AUC değeri 0,668) benzerdi. Bu sonuç IL-40'in gingivitis duyarlılığının tespiti için umut verici bir biyobelirteç olabileceğini göstermiştir.

IL-40 hakkında tıp alanında yapılan çalışmalar incelendiğinde; IL-40'ın immün yanıt mekanizmaları ve B-hücresi homeostazı ile ilişkili bir sitokin olduğu görülmektedir. İlk olarak 2017 yılında, öncelikle fetal karaciğer, kemik iliği ve aktif B hücreleri tarafından eksprese edilen, karakterize edilmemiş C17orf99 geni (kromozom 17 açık okuma çerçevesi 99) tarafından kodlanan düşük moleküler ağırlıklı bir protein olarak tanımlanmıştır (63). Şu anda IL-40, tanınan sitokin ailelerinin diğer üyeleriyle yapısal homoloji paylaşmadığı için bir "orphan" sitokin olarak kabul edilmektedir. Keşfedilmesinden bu yana, IL-40 ekspresyonu B-hücresi fonksiyonlarıyla pozitif olarak ilişkilendirilmiştir. Bu hücrelerin anti-enflamatuvar sitokinlerle, özellikle de TGF- $\beta$  ile aktivasyonu üzerine IL-40'ın aşırı ekspresyonu ve aşırı üretimi gözlenmiştir (64). Diğer yeni kanıtlar, B hücrelerine ek olarak IL-40'ın CD68+ makrofajlar, CD4+ ve CD8+ T hücreleri gibi diğer bağışıklık hücreleri tarafından da üretildiğini göstermişlerdir. Yazarlar ayrıca otoimmün romatizmal bir hastalık olan Primer Sjögren Sendromlu hastaların serum ve tükürük bezi dokularında IL-40'ın aşırı ekspresyonunu göstermiştir (100). Ayrıca yakın zamanda, Romatoid Artritli hastaların serumunda IL-40'ın yukarı regüle edilmiş seviyeleri bulunmuştur (65). Nusrat ve arkadaşları 2023 yılında yayımladıkları bir çalışmada (101) Tip 2 Diabetes Mellitusu olan 106 hasta ve 109 sağlıklı kontrolde serum IL-40 düzeyleri ELISA testi kullanılarak belirlenmiştir. IL-40 düzeyleri Tip 2 Diabetes Mellitusu olan hastalarda kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (2,82 [2,58-3,25] vs. 1,22 [0,93-1,42] ng/L; olasılık [p <0,001]). Bu bulgular IL-40'ın enflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir.

Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada, IL-40 seviyeleri RA hastalarının serumunda kontrollere kıyasla önemli ölçüde artmış olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada B-hücresi homeostazının IL-40 üretimi üzerindeki rolü değerlendirildiğinde, serum IL-40 seviyeleri hastaların %70'inde rituximab tedavisinden (öncelikle B-hücresi tükenmesine neden olan bir kimerik monoklonal anti-insan CD20 antikor) sonra önemli ölçüde azalmış ve geri kalan %30'un serum IL-40 düzeylerinin değişmediğini ve hatta yükseldiğini göstermişlerdir. IL-40 seviyeleri ile B hücreleri sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Çalışma, B-hücrelerinin yanı sıra makrofajlar, T-hücreleri ve nötrofiller gibi diğer bağışıklık hücrelerinin de RA hastalarında IL-40 ekspresyonunun düzenlenmesinde rol

oynadığını göstermiştir (66). Gingivitis periodontitise ilerlediğinde, B hücreleri ve plazma hücrelerinin sayısının arttığı (102) göz önünde bulundurulduğunda P grubunun IL-40 seviye ortalamasının G grubundan düşük olması sadece B hücreleri tarafından eksprese edilmediğini gösteriyor olabilir.

Çalışmamızda tükürük IL-40 değerini G grubunda S grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksek olduğu bulundu. IL-40'ı tanımlayan araştırmacılar olan Catalan-Dibene ve meslektaşları, IL-40'ın immünolojik yönlerini keşfetmek için daha ileri çalışmalar yürütmüşlerdir. İnsan B hücrelerinin, anti-CD40 ve anti-IgM antikörlerinin yanı sıra IL-4 tarafından aktive edildiğinde artmış IL-40 ekspresyonu gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, IL-40 eksikliği olan fareler, genel bir IgA eksikliği göstermiş ve IL-40 eksikliği, düzensiz bağırsak mikrobiyotası ile ilişkilendirilmiştir. Bu gözlemlere dayanarak, IL-40'ın kazanılmış immün yanıtların, özellikle de IgA üretimini içerenlerin gelişiminde/kontrolünde rol oynadığı sonucuna varmışlardır (63). Periodontal hastalıkların patogenezi ile ilgili çalışmalara baktığımızda özellikle salgılanan IgG ve IgA'nın aracılık ettiği kazanılmış bağışıklık yanıtının, diş eti iltihabı, kronik ve agresif periodontitis dahil olmak üzere periodontal hastalıkların patogenezinde koruyucu rol oynadığı uzun süredir bilinmektedir (103). Daha önce, *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'a yönelik tükürük IgA seviyelerinin, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında daha derin periodontal sondlama derinliğine sahip bireylerde önemli ölçüde daha yüksek olduğu gösterilmiştir (104). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde SCD ile tükürükteki IL-40 seviyeleri arasında pozitif korelasyonun sebebinin IL-40 ile IgA arasındaki ilişkiden kaynaklı olabileceğini düşünebiliriz.

G grubundaki IL-40 değerinin, S grubundan daha yüksekken P grubu ile benzer olması dikkat çekiciydi. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis*'e karşı serum IgA ve IgG antikör seviyeleri cep derinliklerinden bağımsız olarak bu mikroorganizmaların bulunduğu hastalarda bulunmayanlara kıyasla açıkça daha yüksek olduğu gösterilmiştir (105). Bizim çalışmamızda da IL-40 düzeylerinde periodontitis grupları ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark çıkmaması hastaların bakteriyel yükleri ile alakalı olabilir. Ayrıca, mikobakteriyel ısı şok proteini 65'e karşı spesifik tükürük IgA antikör seviyelerinin, sağlıklı ve periodontitisli deneklerle karşılaştırıldığında gingivitis olan hastalarda önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (106). Çalışmamız IL-40 ile IgA arasındaki ilişkiyi destekler

nitelikte olup, G grubunda IL-40 seviyesi S grubundan daha yüksek bulunurken; P grubunda IL-40 düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da G grubuna göre daha düşük seviyede olduğu gözlenmiştir.

Tükürük biyobelirteçlerinin periodontal hastalıkta güçlü ayırt etme kapasitesi varken, gingivitis için yeterli kanıt bulunmamaktadır (107). Bizim çalışmamızın sonuçlarına dayanarak IL-40'ın gingivitisli bireyleri sağlıklılardan ayırt etme yeni ve etkili bir biyobelirteç olabileceği söylenebilir.

Çalışmamızda tükürük IL-1 $\beta$  düzeylerinin ortalaması S grubunda 880 $\pm$ 341 pg/ml, G grubunda 1120 $\pm$ 509 pg/ml ve P grubunda ise 1474 $\pm$ 259 pg/ml'dir. Çalışmamızda tükürük IL-1 $\beta$  seviyeleri karşılaştırıldığında literatürdeki birçok çalışma ile uyumlu olarak P grubunda, S ve G grubundan, G grubu da S grubundan anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi. Ayrıca, IL-1 $\beta$  ile klinik parametreler (PI, GI, SCD, KAK ve SK değerleri) arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlemlendi. Son veriler IL-1 $\beta$ , makrofaj enflamatuvar protein-1 alfa, IL-6 ve MMP-8'in periodontal hastalık için tanısal açıdan kabul edilebilir biyobelirteçler olarak tanımlandığını göstermektedir (108). Bu bulguyu doğrulamayan, periodontitisli hastaların ve sağlıklı bireylerin tükürüklerindeki IL-1 $\beta$  konsantrasyonlarının belirlenmesinin periodontal sağlığı hastalıktan kesin olarak ayırt edemediğini söyleyen çalışmalar da vardır (24, 109). Ancak literatürde birçok çalışma IL-1 $\beta$ 'nin periodontitisi ayırt etmede kullanılabilecek önemli bir belirteç olduğunu göstermektedir (9, 12, 19, 108, 110-116). IL-1 $\beta$  genel bir enflamasyon belirteci olarak görülebilir, ancak gingivitis ve periodontitis arasında ayırım yapmanın mümkün olup olmadığı henüz belirlenmemiştir (12). Bazı çalışmalar periodontitis olan bölgelerdeki DOS örneklerinde, gingivitisli bölgelerdeki DOS örneklerine kıyasla daha yüksek IL-1 $\beta$  konsantrasyonları göstermişlerdir (117-119). Bu daha şiddetli ve yaygın periodontal/dişeti enflamasyonunun bir ifadesi olabilir (117). Bizim çalışmamızda alınan tüm örneklerde IL-1 $\beta$  tespit edilebildi. Bu bulgu, kontroller de dahil olmak üzere tüm tükürük örneklerinde IL-1 $\beta$  tespit edebilen Miller ve ark. (9), Gursoy ve ark. (110), Kaushik ve ark. (111) ile benzerlik göstermektedir. Dişeti dokularında az sayıda makrofaj ve mononükleer hücre ve DOS'da nötrofil klinik olarak normal dokularda bulunabilir. Bu hücreler, yerleşik fibroblastlar ve endotelial hücrelerin hepsi IL-1 $\beta$  sentezleyip salabilir, bu da kontrol grubunun tüm örneklerinde IL-1 $\beta$  tespit edilmesini açıklayabilir (111).

Gürsoy ve arkadaşlarının (110) 84 periodontitisli ve 81 sağlıklı bireyde elastaz, laktat dehidrojenaz, IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'nın tükürük konsantrasyonları ve beş periodontal patojen seviyelerini incelediği çalışmada, sağlıklı bireylere kıyasla, periodontitisli bireylerde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek IL-1 $\beta$  tespit edilmiştir. Ayrıca IL-1 $\beta$ 'nın araştırma dahilindeki tükürük sitokinleri ve enzimleri arasında periodontitis ile ilişkili tek biyobelirteç olduğunu bildirmişlerdir. Miller ve arkadaşlarının (9) yaptığı, 28 periodontitisli hasta, 29 sağlıklı kontrol grubundan oluşan kesitsel bir çalışmada, IL-1 $\beta$  periodontitis grubunda (ortalama  $\pm$  standart sapma: 753,7  $\pm$  1022,4 pg/ml) kontrol grubuyla (212,8  $\pm$  167,4 pg/ml) karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha yüksek seviyelere rastlanılmıştır. SK ve KAK ölçümleri ile anlamlı pozitif korelasyon bildirilmiştir. Tükürük örneklerindeki IL-1 $\beta$  seviyelerinin periodontitisi ayırt etme kapasitesini ortaya koyan çok sayıda çalışma olmasına rağmen, dişeti iltihabının bu analitler üzerindeki etkisini aydınlatmaya yönelik gingivitis hastalarını dahil eden çok az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalarda gingivitis periodontitisten ayıran biyobelirteç grupları için umut verici sonuçlar elde edilmesine rağmen, metodolojik açıdan sağlam birden fazla çalışmadan teyit alınamaması nedeniyle kanıt gücü oldukça düşük görülmüştür (108). 2015 yılında Ebersole ve ark., IL-1 $\beta$ , IL-6, MMP-8, makrofaj enflamatuvar protein-1 alfanın tükürük konsantrasyonları tek başına ve kombinasyon halinde sağlıklı gingivitis ve periodontitisten ayırt edebileceğini göstermişlerdir (120). Başka bir çalışmada IL-1 $\beta$ , MMP-8 in tek başına gingivitis ayırt etme yeteneği olmadığını ancak IL-1 $\beta$  ve MMP-8 kombinasyonunun, gingivitis hastalarını sağlıklı deneklerden ayırmak için kullanılabileceğini belirtmişlerdir (121). Bizim çalışmamız tükürük IL-1  $\beta$  seviyesi ile gingivitis hem sağlıktan hem de periodontitisten ayırt ederek etkili bir diyagnostik performans gösterirken MMP-8'in etkinliği düşüktü.

Bizim çalışmamızda, tükürük MMP-8 düzeylerinin ortalaması ise S grubunda 1,8 $\pm$ 0,5 pg/ml, G grubunda 2,0 $\pm$ 0,7 pg/ml ve P grubunda ise 2,1 $\pm$ 0,5 pg/ml olarak bulundu. Tükürük MMP-8 düzeyleri literatürle uyumlu olarak; P grubunda S grubundan (p <0.05) daha yüksekti. G grubunda MMP-8 S ve P grubundan anlamlı (p > 0.05) olarak farklı değildi. Ayrıca, MMP-8 ile klinik parametreler (PI, GI, SCD, KAK ve SK değerleri) arasında anlamlı (p <0.05) pozitif korelasyon gözlemlendi.

MMP-8, stabil periodontitise karşı periodontitisin ilerlediğini gösteren bir biyobelirteç olarak konaktan sentezlenen en umut verici enzim gibi görünmektedir

(24, 122). Periodontal hastalık sırasında MMP-8, nötrofiller ve makrofajlar gibi çeşitli enflamatuvar hücreler tarafından salgılanır ve yüksek MMP-8 konsantrasyonları doku yıkımı ile ilişkilendirilmiştir (123). MMP-8, dişlerin destek yapılarının korunmasında önemli olan tip I ve tip III kollajenleri parçalama yeteneğine sahip tek proteinazdır. Dolayısıyla, MMP-8 konsantrasyonu ne kadar yüksekse, periodontal hastalığın o kadar kötü olduğu düşünülür. Çeşitli çalışmalar, periodontitis şiddeti ve seyri ile ilişkili olarak MMP-8 seviyelerinin arttığını göstermiştir (20, 74, 121, 124-128). Tükürükteki MMP-8'in biyobelirteç olarak güçlü bir potansiyeli bulunmaktadır (123-125). Gürsoy ve arkadaşları, periodontal durumlarına göre seçilen 230 kişilik bir popülasyonda tükürük MMP-8 konsantrasyonlarının generalize periodontitisli deneklerde kontrollere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (126). Sorsa ve ark. (129) MMP'lerin (özellikle MMP-8, -9 ve -13) yıkıcı periodontal hastalıkta rol oynadığını ve MMP-8 veya nötrofil kollajenazın dişeti dokusunu, DOS'u, tükürüğü etkileyen başlıca interstisyel kollajenaz olduğunu göstermiştir. Gupta ve ark. (125) tarafından yapılan bir çalışmada, periodontal hastalık tanısı konan hastalarda ve kontrol grubunda MMP-8 seviyeleri değerlendirilmiş ve periodontal hastalığı olan hastalarda kontrol hastalarına kıyasla anlamlı derecede yüksek MMP-8 seviyelerinin yanı sıra MMP-8 ile analiz edilen tüm klinik parametreler, yani SCD, KAK, GI ve PI arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Bizim çalışmamızın sonuçları da benzer olarak MMP-8 seviyelerinin periodontal klinik parametrelerle, dolayısıyla hastalık şiddeti ile, oldukça yüksek anlamlı bir ilişkide olduğunu göstermektedir.

Miller ve ark. yaptığı bir vaka-kontrol çalışmasında 28 orta-şiddetli periodontal hastalığı olan ve 29 sağlıklı kontrol grubundan oluşan 57 katılımcının tüm tükürüğündeki IL-1 $\beta$ , MMP-8 ve osteoprotegerin düzeyleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Tükürükteki ortalama IL-1 $\beta$  ve MMP-8 seviyeleri olgularda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve periodontal indekslerle korelasyonları gösterilmiştir. MMP-8 ve IL-1 $\beta$ 'nin tükürük seviyelerinin birlikte yükselmesi periodontal hastalık riskini 45 kat artırmış ve her üç biyobelirteçteki yükselmeler periodontal hastalığın göstergesi olan bireysel klinik parametrelerle korelasyon göstermiştir (9). Ebersole ve ark. prospektif bir kohort çalışmasında, 30 sağlıklı yetişkinden ve 50 kronik yetişkin periodontitis hastasından birçok kez toplanan uyarılmamış tam tükürük numunelerinde periodontitis hastalarında IL-1 $\beta$  ve

MMP-8 sevipleri önemli ölçüde yüksek bulunmuşlardır(114). Sorsa ve ark. yaptıkları analizler sonucunda MMP-8'in, özellikle kapsamlı bir periodontal muayenenin mümkün olmadığı büyük ölçekli halk sağlığı araştırmalarında başarılı bir teşhis aracı olarak tek başına veya IL-1 $\beta$  ve *Porphyromonas gingivalis* ile birlikte kullanılabileceğini belirtmişlerdir (130). Bizim çalışmamızdaki veriler, periodontitis hastalarının tükürüğünde IL-1 $\beta$  ve MMP-8 konsantrasyonlarının önemli ölçüde yükseldiğini gösteren diğerler çalışmalarla tutarlıdır. Sukriti ve arkadaşlarının yayınladığı bir meta analizde periodontitisi ayırt etmede, MMP-8, %65 ila %87 arasında değişen duyarlılık ve %48 ila %87 arasında değişen seçicilik ile doku yıkımı için en güçlü belirteçlerden biriydi. IL-1 $\beta$  için, beş çalışmada duyarlılık %54 ila %88 ve seçicilik %52 ila %100 arasında değişmektedir (108). Çalışmamızın sonuçlarına göre periodontitisi ayırt etmede ROC analizleri, IL-1 $\beta$  için duyarlılık %85, seçicilik %85, AUC değeri 0,916 olarak bulunurken, MMP-8 için ise duyarlılık %72,5, seçicilik %67,5, AUC değeri 0,716 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, periodontisli hastaların tükürük biyoanalit düzeylerinin sağlıklı deneklerde bulunan normal düzeylerden benzersiz şekilde farklı olmasıyla beraber IL-1 $\beta$  ve MMP-8'in teşhis potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmanın limitasyonları şunlar olabilir: Çalışma örneklemini sadece sistemik olarak sağlıklı ve sigara içmeyen bireylerden oluşturmuştur, dolayısıyla sonuçlar genelleştirilebilirliği kısıtlıdır. Çalışmada değerlendirilmeyen diğer faktörler, örneğin beslenme, yaşam tarzı ve genetik faktörler, sitokin düzeylerini etkileyebilir ve sonuçları etkileyebilir. Tükürük örnekleri kullanılarak yapılan periodontal hastalıkla ilgili sitokin analizlerine ek olarak, serum veya DOS'daki sitokin düzeylerinin de incelenmesi, periodontal hastalığın daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayabilir. Ancak, bu ek analizlerin maliyeti ve invazivliği dikkate alınmalıdır.

Tükürük teşhisi alanındaki gelecekteki gelişmelerin tarama, risk değerlendirmesi ve tedavi yönetimi yaklaşımımıza yenilikler getirmesi muhtemeldir. Gelecekte, tükürüğün gerçek bir teşhis sıvısı olarak kullanılması için gereken özgüllüğü kazanacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte, bu ancak uygun biyobelirteç kombinasyonları, uzunlamasına çalışmalarda doğrulandıktan ve döngüsel günlük değişimler ve potansiyel bileşenler açısından güvenilirlikleri onaylandıktan sonra elde edilecektir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma sonuçlarımıza dayanarak,

♣ Tükürük biyobelirteçlerinden IL-40 ve IL-1 $\beta$ 'nin gingivitisin teşhisinde etkili olduğu bulunmuştur. IL-40 ile SCD, KAK, SK değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmesine rağmen yaş, PI, GI değerleri arasında anlamlı ( $p > 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlenmemiştir. IL-40 ile IL-1 $\beta$  ve MMP-8 değerleri arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlemlendi. Ayrıca, IL-1 $\beta$  ile tüm klinik parametreler arasında anlamlı ( $p < 0.05$ ) pozitif korelasyon gözlemlendi.

♣ Gingivitis teşhisinde IL-40 için sınır değer 23,7 pg/ml alındığında duyarlılık %67,5, seçicilik %52,5, AUC değeri 0,644 olarak bulunurken, IL-1 $\beta$  için ise sınır değer 1015,875 pg/ml alındığında duyarlılık %62,5, seçicilik %62,5, AUC değeri 0,668 olarak bulunmuştur.

♣ Periodontitis teşhisinde IL-1 $\beta$  için sınır değer 1213,84 pg/ml alındığında duyarlılık %85, seçicilik %85, AUC değeri 0,916 olarak bulunurken, MMP-8 için ise sınır değer 1,895 pg/ml alındığında duyarlılık %72,5, seçicilik %67,5, AUC değeri 0,716 olarak bulunmuştur.

♣ Periodontitis için bir risk faktörü olan gingivitisin, hangi oranda ve hangi faktörlere bağlı olarak periodontitise dönüştüğü tam olarak anlaşılamamıştır. IL-40 tek başına veya IL-1 $\beta$  ile kombine olarak gingivitisten periodontitise geçişte rol oynayabilir. Bunun daha iyi anlaşılabilmesi için aktif hastalığın farklı aşamalarında görülen analit profillerini yakalamak için hastaları düzenli aralıklarla örnekleyen çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR:

1. In: Brogden KA, Guthmiller JM, editors. Polymicrobial Diseases. Washington (DC): ASM Press  
Copyright © 2002, ASM Press.; 2002.
2. Giannobile WV. Salivary diagnostics for periodontal diseases. *J Am Dent Assoc.* 2012;143(10 Suppl):6s-11s.
3. Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Periodontol.* 2013;84(4 Suppl):S113-34.
4. Palm F, Lahdentausta L, Sorsa T, Tervahartiala T, Gokel P, Bugge F, et al. Biomarkers of periodontitis and inflammation in ischemic stroke: A case-control study. *Innate Immun.* 2014;20(5):511-8.
5. Fuentes L, Yakob M, Wong DT. Emerging horizons of salivary diagnostics for periodontal disease. *Br Dent J.* 2014;217(10):567-73.
6. Gursoy UK, Könönen E. Editorial: Use of Saliva in Diagnosis of Periodontitis: Cumulative Use of Bacterial and Host-Derived Biomarkers. *Front Cell Infect Microbiol.* 2016;6:196.
7. Ghallab NA. Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. *Arch Oral Biol.* 2018;87:115-24.
8. Kinney JS, Ramseier CA, Giannobile WV. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1098:230-51.
9. 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.
10. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis--a review. *J Clin Periodontol.* 2000;27(7):453-65.
11. Uitto VJ, Suomalainen K, Sorsa T. Salivary collagenase. Origin, characteristics and relationship to periodontal health. *J Periodontal Res.* 1990;25(3):135-42.
12. Rathnayake N, Akerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, Tryselius Y, et al. Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *J Clin Periodontol.* 2013;40(2):140-7.

13. Zingaretti C, Arigò M, Cardaci A, Moro M, Crosti M, Sinisi A, et al. Identification of new autoantigens by protein array indicates a role for IL4 neutralization in autoimmune hepatitis. *Mol Cell Proteomics*. 2012;11(12):1885-97.
14. Gao X, Chan PKS, Lui GCY, Hui DSC, Chu IM, Sun X, et al. Interleukin-38 ameliorates poly(I:C) induced lung inflammation: therapeutic implications in respiratory viral infections. *Cell Death Dis*. 2021;12(1):53.
15. Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood*. 1991;77(8):1627-52.
16. Masola V, Carraro A, Granata S, Signorini L, Bellin G, Violi P, et al. In vitro effects of interleukin (IL)-1 beta inhibition on the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) of renal tubular and hepatic stellate cells. *J Transl Med*. 2019;17(1):12.
17. Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *Faseb j*. 1991;5(8):2145-54.
18. Pirilä E, Ramamurthy N, Maisi P, McClain S, Kucine A, Wahlgren J, et al. Wound healing in ovariectomized rats: effects of chemically modified tetracycline (CMT-8) and estrogen on matrix metalloproteinases -8, -13 and type I collagen expression. *Curr Med Chem*. 2001;8(3):281-94.
19. Bawankar PV, Kolte AP, Kolte RA. Evaluation of stress, serum and salivary cortisol, and interleukin-1 $\beta$  levels in smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2018;89(9):1061-8.
20. Gursoy UK, Könönen E, Pradhan-Palikhe P, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Suominen-Taipale L, et al. Salivary MMP-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2010;37(6):487-93.
21. Tymkiw KD, Thunell DH, Johnson GK, Joly S, Burnell KK, Cavanaugh JE, et al. Influence of smoking on gingival crevicular fluid cytokines in severe chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2011;38(3):219-28.
22. Bunaes DF, Mustafa M, Mohamed HG, Lie SA, Leknes KN. The effect of smoking on inflammatory and bone remodeling markers in gingival crevicular fluid and subgingival microbiota following periodontal therapy. *J Periodontal Res*. 2017;52(4):713-24.
23. Miranda TS, Almeida ML, Marins LM, da Silva HDP, Feres M, Duarte PM. Might smoking assuage the pro-inflammatory effect of diabetes in periodontal sites? *Oral Dis*. 2020;26(1):200-12.

24. 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.
25. 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.
26. Rangbulla V, Nirola A, Gupta M, Batra P, Gupta M. Salivary IgA, Interleukin-1 $\beta$  and MMP-8 as Salivary Biomarkers in Chronic Periodontitis Patients. *Chin J Dent Res*. 2017;20(1):43-51.
27. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontol 2000*. 2020;84(1):14-34.
28. Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol 2000*. 1994;5:7-25.
29. 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. *Journal of periodontology*. 1994;65(3):260-7.
30. 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.
31. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*. 1997;14:9-11.
32. 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.
33. 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.
34. 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.

35. 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 Clin Periodontol*. 2018;45 Suppl 20:S68-s77.
36. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17038.
37. 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.
38. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque-induced gingival conditions. *J Periodontol*. 2018;89 Suppl 1:S17-s27.
39. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol*. 2008;79(8 Suppl):1560-8.
40. Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:57-71.
41. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996;1(1):821-78.
42. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol 2000*. 2008;48:92-110.
43. Teles R, Teles F, Frias-Lopez J, Paster B, Haffajee A. Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):95-162.
44. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000*. 1997;14:33-53.
45. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000*. 1997;14:12-32.
46. Haffajee AD, Dibart S, Kent RL, Jr., Socransky SS. Factors associated with different responses to periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1995;22(8):628-36.
47. Qasim SSB, Al-Otaibi D, Al-Jasser R, Gul SS, Zafar MS. An Evidence-Based Update on the Molecular Mechanisms Underlying Periodontal Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(11).

48. Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*. 2010;89(12):1349-63.
49. Murphy KM, Reiner SL. The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol*. 2002;2(12):933-44.
50. Baltacıoğlu E, Yuva P, Aydın G, Alver A, Kahraman C, Karabulut E, et al. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? *J Periodontol*. 2014;85(10):1432-41.
51. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*. 1997;14:216-48.
52. Ishikawa I. Host responses in periodontal diseases: a preview. *Periodontol 2000*. 2007;43:9-13.
53. Kinane DF, Lappin DF. Immune processes in periodontal disease: a review. *Ann Periodontol*. 2002;7(1):62-71.
54. 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.
55. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976;34(3):235-49.
56. 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.
57. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9(3):248-66.
58. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000;117(4):1162-72.
59. Atkins E. Pathogenesis of fever. *Physiol Rev*. 1960;40:580-646.
60. Rosenwasser LJ. Biologic activities of IL-1 and its role in human disease. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102(3):344-50.
61. Piccioli P, Rubartelli A. The secretion of IL-1 $\beta$  and options for release. *Semin Immunol*. 2013;25(6):425-9.

62. Cheng R, Wu Z, Li M, Shao M, Hu T. Interleukin-1 $\beta$  is a potential therapeutic target for periodontitis: a narrative review. *Int J Oral Sci.* 2020;12(1):2.
63. Catalan-Dibene J, Vazquez MI, Luu VP, Nuccio SP, Karimzadeh A, Kastenschmidt JM, et al. Identification of IL-40, a Novel B Cell-Associated Cytokine. *J Immunol.* 2017;199(9):3326-35.
64. Catalan-Dibene J, McIntyre LL, Zlotnik A. Interleukin 30 to Interleukin 40. *J Interferon Cytokine Res.* 2018;38(10):423-39.
65. Al Ghuraibawi ZA, Sharquie IK, Gorial FI. Diagnostic potential of interleukin-40 (IL-40) in rheumatoid arthritis patients. *The Egyptian Rheumatologist.* 2022;44(4):377-80.
66. Navrátilová A, Andrés Cerezo L, Hulejová H, Bečvář V, Tomčík M, Komarc M, et al. IL-40: A New B Cell-Associated Cytokine Up-Regulated in Rheumatoid Arthritis Decreases Following the Rituximab Therapy and Correlates With Disease Activity, Autoantibodies, and NETosis. *Front Immunol.* 2021;12:745523.
67. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! *Curr Opin Cell Biol.* 2001;13(5):534-40.
68. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003;92(8):827-39.
69. Van Wart HE, Birkedal-Hansen H. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(14):5578-82.
70. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol.* 1997;74(2):111-22.
71. Brew K, Dinakarandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1477(1-2):267-83.
72. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2001;17:463-516.
73. English WR, Velasco G, Stracke JO, Knäuper V, Murphy G. Catalytic activities of membrane-type 6 matrix metalloproteinase (MMP25). *FEBS Lett.* 2001;491(1-2):137-42.

74. Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci.* 2008;50(1):53-6.
75. Xu L, Yu Z, Lee HM, Wolff MS, Golub LM, Sorsa T, et al. Characteristics of collagenase-2 from gingival crevicular fluid and peri-implant sulcular fluid in periodontitis and peri-implantitis patients: pilot study. *Acta Odontol Scand.* 2008;66(4):219-24.
76. Chubinskaya S, Huch K, Mikecz K, Cs-Szabo G, Hasty KA, Kuettner KE, et al. Chondrocyte matrix metalloproteinase-8: up-regulation of neutrophil collagenase by interleukin-1 beta in human cartilage from knee and ankle joints. *Lab Invest.* 1996;74(1):232-40.
77. Lee YH, Wong DT. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *Am J Dent.* 2009;22(4):241-8.
78. Hu S, Arellano M, Boontheung P, Wang J, Zhou H, Jiang J, et al. Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery. *Clin Cancer Res.* 2008;14(19):6246-52.
79. Jaedicke KM, Preshaw PM, Taylor JJ. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2016;70(1):164-83.
80. Slots J. Periodontology: past, present, perspectives. *Periodontol 2000.* 2013;62(1):7-19.
81. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet.* 2005;366(9499):1809-20.
82. MacFarlane LA, Todd DJ. Kinase inhibitors: the next generation of therapies in the treatment of rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2014;17(4):359-68.
83. Vissink A, Spijkervet FK, Van Nieuw Amerongen A. Aging and saliva: a review of the literature. *Spec Care Dentist.* 1996;16(3):95-103.
84. Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2016;70(1):26-37.
85. Silness J, Loe H. PERIODONTAL DISEASE IN PREGNANCY. II. CORRELATION BETWEEN ORAL HYGIENE AND PERIODONTAL CONDITION. *Acta Odontol Scand.* 1964;22:121-35.
86. Loe H, Silness J. PERIODONTAL DISEASE IN PREGNANCY. I. PREVALENCE AND SEVERITY. *Acta Odontol Scand.* 1963;21:533-51.
87. Joss A, Adler R, Lang NP. Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *J Clin Periodontol.* 1994;21(6):402-8.

88. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;694:72-7.
89. Kornman KS. Host modulation as a therapeutic strategy in the treatment of periodontal disease. *Clin Infect Dis.* 1999;28(3):520-6.
90. Javed F, Näsström K, Benchimol D, Altamash M, Klinge B, Engström PE. Comparison of periodontal and socioeconomic status between subjects with type 2 diabetes mellitus and non-diabetic controls. *J Periodontol.* 2007;78(11):2112-9.
91. Otomo-Corgel J, Pucher JJ, Rethman MP, Reynolds MA. State of the science: chronic periodontitis and systemic health. *J Evid Based Dent Pract.* 2012;12(3 Suppl):20-8.
92. Javed F, Al-Askar M, Samaranyake LP, Al-Hezaimi K. Periodontal disease in habitual cigarette smokers and nonsmokers with and without prediabetes. *Am J Med Sci.* 2013;345(2):94-8.
93. Kowalski J, Nowak M, Górski B, Górska R. What Has Immunology Brought to Periodontal Disease in Recent Years? *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2022;70(1):26.
94. Oberg SG, Izutsu KT, Truelove EL. Human parotid saliva protein composition: dependence on physiological factors. *Am J Physiol.* 1982;242(3):G231-6.
95. Rudney JD, Kajander KC, Smith QT. Correlations between human salivary levels of lysozyme, lactoferrin, salivary peroxidase and secretory immunoglobulin A with different stimulatory states and over time. *Arch Oral Biol.* 1985;30(11-12):765-71.
96. Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campell CL, Humphries RL, Christodoulides N, et al. Current developments in salivary diagnostics. *Biomarkers in medicine.* 2010;4(1):171-89.
97. Konstantinou GN. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Methods Mol Biol.* 2017;1592:79-94.
98. 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.
99. Leroy R, Eaton KA, Savage A. Methodological issues in epidemiological studies of periodontitis--how can it be improved? *BMC Oral Health.* 2010;10:8.
100. Rizzo C, Lo Pizzo M, Mohammadnezhad L, Lentini VL, Di Liberto D, Grasso G, et al. POS0177 POTENTIAL INVOLVEMENT OF IL-40 AND IL-40-

PRODUCING CELLS IN PRIMARY SJOGREN'S SYNDROME (<span class="sc">p</span>SS) AND <span class="sc">p</span>SS-ASSOCIATED LYMPHOMA. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2021;80(Suppl 1):301-2.

101. Nussrat SW, Ad'hiah AH. Interleukin-40 is a promising biomarker associated with type 2 diabetes mellitus risk. *Immunol Lett*. 2023;254:1-5.

102. Mahanonda R, Champaiboon C, Subbalekha K, Sa-Ard-Iam N, Rattanathammatada W, Thawanaphong S, et al. Human Memory B Cells in Healthy Gingiva, Gingivitis, and Periodontitis. *J Immunol*. 2016;197(3):715-25.

103. Napimoga MH, Nunes LH, Maciel AA, Demasi AP, Benatti BB, Santos VR, et al. Possible involvement of IL-21 and IL-10 on salivary IgA levels in chronic periodontitis subjects. *Scand J Immunol*. 2011;74(6):596-602.

104. SATO M, NAGATA A, MAEHARA R, ENDO J, HINODE D, NAKAMURA R. Salivary IgA antibody to *Bacteroides gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in patients with adult marginal periodontitis. *JOURNAL OF DENTAL HEALTH*. 1987;37(3):244-9.

105. Pussinen PJ, Könönen E, Paju S, Hyvärinen K, Gursoy UK, Huuonen S, et al. Periodontal pathogen carriage, rather than periodontitis, determines the serum antibody levels. *J Clin Periodontol*. 2011;38(5):405-11.

106. Schett G, Metzler B, Kleindienst R, Moschèn I, Hattmannsdorfer R, Wolf H, et al. Salivary anti-hsp65 antibodies as a diagnostic marker for gingivitis and a possible link to atherosclerosis. *Int Arch Allergy Immunol*. 1997;114(3):246-50.

107. Giannobile WV, McDevitt JT, Niedbala RS, Malamud D. Translational and clinical applications of salivary diagnostics. *Adv Dent Res*. 2011;23(4):375-80.

108. Kc S, Wang XZ, Gallagher JE. Diagnostic sensitivity and specificity of host-derived salivary biomarkers in periodontal disease amongst adults: Systematic review. *J Clin Periodontol*. 2020;47(3):289-308.

109. Teles RP, Likhari V, Socransky SS, Haffajee AD. Salivary cytokine levels in subjects with chronic periodontitis and in periodontally healthy individuals: a cross-sectional study. *J Periodontal Res*. 2009;44(3):411-7.

110. Gursoy UK, Könönen E, Uitto VJ, Pussinen PJ, Hyvärinen 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.

111. Kaushik R, Yeltiwar RK, Pushpanshu K. Salivary interleukin-1 $\beta$  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.
112. 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.
113. Tobón-Arroyave SI, Jaramillo-González PE, Isaza-Guzmán DM. Correlation between salivary IL-1beta levels and periodontal clinical status. *Arch Oral Biol.* 2008;53(4):346-52.
114. Ebersole JL, Schuster JL, Stevens J, Dawson D, 3rd, Kryscio RJ, Lin Y, et al. Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. *J Clin Immunol.* 2013;33(1):271-9.
115. Sánchez GA, Miozza VA, Delgado A, Busch L. Salivary IL-1 $\beta$  and PGE2 as biomarkers of periodontal status, before and after periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 2013;40(12):1112-7.
116. Demirci MB, Daltaban Ö, Üstün K. Salivary bactericidal/permeability-increasing protein: A novel inflammatory marker associated with periodontitis. *Clin Oral Investig.* 2023.
117. Zhong Y, Slade GD, Beck JD, Offenbacher S. Gingival crevicular fluid interleukin-1beta, prostaglandin E2 and periodontal status in a community population. *J Clin Periodontol.* 2007;34(4):285-93.
118. Figueredo CM, Ribeiro MS, Fischer RG, Gustafsson A. Increased interleukin-1beta concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic of periodontitis. *J Periodontol.* 1999;70(12):1457-63.
119. Becerik S, Öztürk V, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *J Periodontol.* 2012;83(10):1304-13.
120. Ebersole JL, Nagarajan R, Akers D, Miller CS. Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Front Cell Infect Microbiol.* 2015;5:62.
121. Mohammed HA, Abdulkareem AA, Zardawi FM, Gul SS. Determination of the Accuracy of Salivary Biomarkers for Periodontal Diagnosis. *Diagnostics (Basel).* 2022;12(10).

122. Mancini S, Romanelli R, Laschinger CA, Overall CM, Sodek J, McCulloch CA. Assessment of a novel screening test for neutrophil collagenase activity in the diagnosis of periodontal diseases. *J Periodontol.* 1999;70(11):1292-302.
123. Kraft-Neumärker M, Lorenz K, Koch R, Hoffmann T, Mäntylä P, Sorsa T, et al. Full-mouth profile of active MMP-8 in periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2012;47(1):121-8.
124. Salminen A, Gursoy UK, Paju S, Hyvärinen K, Mäntylä P, Buhlin K, et al. Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2014;41(5):442-50.
125. Gupta N, Gupta ND, Gupta A, Khan S, Bansal N. Role of salivary matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in chronic periodontitis diagnosis. *Front Med.* 2015;9(1):72-6.
126. Gursoy UK, Könönen E, Huumonen S, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Suominen AL, et al. Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2013;40(1):18-25.
127. Johnson N, Ebersole JL, Kryscio RJ, Danaher RJ, Dawson D, 3rd, Al-Sabbagh M, et al. Rapid assessment of salivary MMP-8 and periodontal disease using lateral flow immunoassay. *Oral Dis.* 2016;22(7):681-7.
128. de Moraes EF, Pinheiro JC, Leite RB, Santos PPA, Barboza CAG, Freitas RA. Matrix metalloproteinase-8 levels in periodontal disease patients: A systematic review. *J Periodontal Res.* 2018;53(2):156-63.
129. Sorsa T, Tjäderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med.* 2006;38(5):306-21.
130. Sorsa T, Gursoy UK, Nwhator S, Hernandez M, Tervahartiala T, Leppilähti J, et al. Analysis of matrix metalloproteinases, especially MMP-8, in gingival crevicular fluid, mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2016;70(1):142-63.

## EKLER

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



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

..10.../07./2020

Sayı : 70904504/

Konu :

Sayın

Dr.Öğr.Üyesi Nezahat Arzu KAYAR  
Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz, "Periodontal Açından Sağlıklı ve Periodontal Hastalığa Sahip Bireylerde Tükürük Örneklerinde IL-40, IL-1 $\beta$ , MMP-8, MMP-9 Düzeylerinin Değerlendirilmesi" adlı çalışmaya ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Arda TAŞATARGİL  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

Eki: Etik Kurul Kararı

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

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

2020

<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>	ETİK KURULUN ADI	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	[REDACTED]
	TELEFON	[REDACTED]
	FAKS	[REDACTED]
	E-POSTA	[REDACTED]
	ETİK KURUL KODU	2012-KAEK-20
<b>PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI</b>	Dr.Öğr.Üyesi Nezahat Arzu KAYAR	
<b>ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI</b>	Periodontal Açından Sağlıklı ve Periodontal Hastalığa Sahip Bireylerde Tükürük Örneklerinde IL-40, IL-1 $\beta$ , MMP-8, MMP-9 Düzeylerinin Değerlendirilmesi	
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	Karar No:KAEK- 648	Tarih: 26.08.2020
	Yukarıda bilgileri verilen çalışmanın yapılmasında bilimsel ve etik açısından sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir	



6

ASGARI BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Katılımcı / Gönüllünün Protokol Numarası:

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

a. Araştırmanın Adı: Periodontal açıdan sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerde tükürük örneklerinde IL-40, IL-1 $\beta$  ve MMP-8 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: Bu çalışmanın amacı sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerde; tükürükte IL-40, IL-1 $\beta$ , MMP-8 ve MMP-9 düzeylerini ELİSA yöntemiyle tespit etmek, bu sitokinlerin periodontal hastalığındaki rolünü değerlendirmek ve birbirleriyle olan muhtemel korelasyonunu araştırmaktır.

d. Araştırmanın Nedeni:

( ) Bilimsel araştırma

(X) Tez çalışması

d. Araştırmanın Öngörülen Süresi:

9 AY

e. Araştırmaya Katılması Beklenen Katılımcı/Gönüllü Sayısı:

120

f. 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 uygulanacak ve periodontal hastalığa sahip bireyler ile sağlıklı gönüllüler belirlenecektir. Buna ek olarak tüm bireylerden tükürük örnekleri toplanacaktır. Tükürük örnekleri; için hastalar 5 dakika boyunca ağız tabanında tükürüklerini biriktirerek tükürmesi istenecek ve alınan örnekler eppendorf tüpüne



6

koyulacaktır. Mevcut çalışma tükürük örneklerin toplanması dışında herhangi bir işlemi içermemektedir.

**3. Gönüllüler/Katılımcılar İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:**

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

**4. Araştırma Konusundaki Soruların Cevaplandırılması:**

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

Adı- Soyadı: Fatma KÖKSEL BABUN

**5. Zararların Karşılanması:**

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 Nezahat Arzu Kayar tarafından karşılanacağı bana bildirildi.

**6. Araştırma Giderleri:**

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

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

- Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
- Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
- Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

**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.



6

**10. Çalışmaya Katılma Onayı:**

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

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

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 faks numarası):

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı- Soyadı:

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

Hasta No: \_\_\_\_\_ Tarih: \_\_\_\_\_  
Ad Soyad: \_\_\_\_\_ Yaş: \_\_\_\_\_  
Cinsiyet: \_\_\_\_\_ Teşhis: \_\_\_\_\_  
Fırçalama: \_\_\_\_\_ Sistemik Hastalık: \_\_\_\_\_  
Sigara: \_\_\_\_\_ Telefon: \_\_\_\_\_

	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
PI														
SCD														
GI														
ÇD														

Mobile

	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
PI														
SCD														
GI														
ÇD														

Mobile

Tüm Ağız PI 0,00 GI 0,00 BOP% # SCD 0,00 CAL 0,00 ÇD 0,00

Notlar:

PI = Plak İndeksi

SCD = Sondajmada Çep Derinliği

GI = Gingival İndeks

ÇD = Çekilme Derecesi

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
PERİODONTOLOJİ A.D. HASTA TAKİP FORMU

Adı Soyadı:

Tarih:

Yaşı /Cinsiyeti:

Mesleği:

Telefon:

**DENTAL ANAMNEZ**

Şikayeti:

Ağrı:

Sigara (Paket-gün/yıl):

Tek Taraflı Çiğneme:

Diş fırçalama sıklığı/ Şekli:

Diş sıkma gıcırdatma:

Daha önce periodontal tedavi gördü mü?:

Ağız solunumu:

Notlar:

**SİSTEMİK ANAMNEZ**

Hastanede yattınız mı/ niçin:

Kalp damar hastalıkları:

Sürekli kullandığınız bir ilaç var mı:

Sindirim sistemi hastalıkları:

Bir yeriniz kanadığında kolayca duruyor mu:

Böbrek hastalıkları:

Hipertansiyon:

Karaciğer hastalıkları:

Diabet:

Solunum sistemi hastalıkları:

Hepatit/AIDS:

Kan hastalıkları/ anemi:

Osteoporoz:

Ateşli eklem romatizması:

Tüberküloz:

Penisilin alerjisi

Notlar:

**Uygulanan Tedaviler:**

**Teşhis:**

Tarih	ΔH	Uygulanan tedavi:

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Fatma	<b>Uyruğu</b>	
<b>Soyadı</b>	KÖKSEL BABUN	<b>Tel no</b>	
<b>Doğum Tarihi</b>		<b>e-posta</b>	

### Eğitim Bilgileri

	<b>Mezun Olduğu Kurum</b>	<b>Mezuniyet yılı</b>
<b>Lise</b>	Aldemir Atilla Konuk Anadolu Lisesi	<b>2005</b>
<b>Lisans/Yüksek Lisans</b>	Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	<b>2013</b>
<b>Doktora /Uzmanlık</b>	Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı	<b>2023</b>

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre</b>
<b>Diş Hekimi</b>	Çeşme Birgül Gürbüz Muayenehanesi	<b>2013-2015</b>
<b>Diş Hekimi</b>	Korkuteli Devlet Hastanesi	<b>2016-2018</b>
<b>Arş. Gör.</b>	Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı	<b>2018-2023</b>