

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

FARKLI PERİODONTAL HASTALIKLARA SAHİP
BİREYLERİN DİŞETİ OLUĞU SIVISI ve TÜKÜRÜKTE
FERRİTİN, ALKALEN FOSFATAZ ve MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-8 DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Erim BOZKURT

ORCID: 0000-0003-0483-331X

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Şükrü ENHOŞ

İZMİR- 2022

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

FARKLI PERİODONTAL HASTALIKLARA SAHİP
BİREYLERİN DİŞETİ OLUĞU SIVISI ve TÜKÜRÜKTE
FERRİTİN, ALKALEN FOSFATAZ ve MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-8 DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Erim BOZKURT

ORCID: 0000-0003-0483-331X

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Şükrü ENHOŞ

Bu tez İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2019-TDR-SABE-0009 nolu proje ile desteklenmiştir.

İZMİR- 2022

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, anlayış gösteren, yardımını esirgemeyen, beni bilimsel ve mesleki ve kişilik anlamında da yetiştiren ve tez çalışmamda büyük emeği bulunan danışman hocam Prof. Dr. Şükrü ENHOŞ'a,

Tüm eğitim sürecimde mesleki bilgi, tecrübe ve deneyimlerini paylaştığı değerli hocalarım Prof. Dr. Abdullah Seçkin ERTUĞRUL ve Prof. Dr. Mehmet Sağlam'a,

Uzmanlık eğitimimin başından sonuna kadar, teorik bilgi ve pratik tecrübelerinden faydalandığım Levent SAVRAN'a,

Birlikte doktora eğitimine başladığımız andan itibaren, güzel ve zorlu günleri yanyana geçirdiğim, içtenliklerini, dostluklarını ve desteklerini hep hissettiğim sevgili arkadaşlarım Alparslan EZBER, İsmail TAŞDEMİR, Diğdem KÜÇÜK, Kemal AKSOY'a

Doktora eğitimime başladığım andan itibaren, güzel ve zorlu günleri yanyana geçirdiğim, içtenliklerini, dostluklarını ve desteklerini hep hissettiğim sevgili arkadaşlarım, Hasan Onur AKIN, Hazal ÜSTÜNEL AKKAYA, Erkan SARI, Türkel HASANZADE, Aliye GERZİLE , Yonca NAZİKER, Ece ÖZER , İsmet İlke ALKAN, Büşra SİNCANLI ve Aysun DEMİRÇAL'a, birlikte çalışmaktan keyif aldığım bölümdeki diğer tüm çalışma arkadaşlarıma ve personeliime,

Beni bu yaşa getiren, koşulsuz seven ve her zaman arkamda olan başta aileme, Son olarak doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca en büyük destekçim, şansım ve bu yorucu süreci varlığıyla keyifli kılan canım eşim Tuğçe KOÇAK BOZKURT'a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

FARKLI PERİODONTAL HASTALIKLARA SAHİP BİREYLERİN DİŞETİ OLUĞU SIVISI ve TÜKÜRÜKTE FERRİTİN, ALKALEN FOSFATAZ ve MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-8 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Giriş ve Amaç: Bu klinik çalışmanın amacı periodontal olarak sağlıklı (S), gingivitisli (G) ve periodontitisli (P) bireylerin dişeti oluğu sıvısı (DOS) ve tükürükteki ferritin, alkalen fosfataz ve matris metalloproteinaz-8 seviyelerinin tespiti ve bu moleküllerin birbirleriyle ve klinik parametrelerle olan ilişkilerinin incelenmesidir. Ayrıca cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 1. ve 3. aylardaki biyokimyasal ve klinik parametrelerdeki değişimler arasındaki ilişki değerlendirildi.

Materyal-Metot: Sistemik olarak sağlıklı, sigara içmeyen, periodontitisli (P grubu, n=20), gingivitisli (G grubu, n=20) ve periodontal olarak sağlıklı (S grubu, n=20) 60 bireyden diş eti oluğu sıvısı ve tükürük örnekleri toplandı. Ayrıca tüm klinik parametreler başlangıçta tüm gruplar için kaydedildi. Sadece P grubu için cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 1. Ve 3. aylarda DOS ve tükürük örneklemeleri ve klinik kayıtlar tekrarlandı. Örneklerdeki ferritin, MMP8 ve ALP seviyeleri enzim ilintili immün test (ELISA) ile belirlendi.

Sonuçlar: DOS ferritin total miktarları P ve G grubunda S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). Tükürük MMP-8 değerleri P grubundaki G ve S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Tükürük ALP değerleri P grubunda S ve G grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiştir ($p<0,05$). P grubunda uygulanan cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 1. ay ve 3. ayda DOS ve tükürük ferritin ve MMP-8 değerlerinde anlamlı bir azalma olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda ferritin, ALP ve MMP-8'in periodontal hastalık patogenezinde rol oynayabileceği, periodontal hastalıkların teşhisinde kullanılabilecek biyolojik belirteçlere aday olabileceği düşünülmektedir.

SUMMARY

EVALUATIONS OF FERRITIN, ALKALINE PHOSPHATASE AND MATRIX METALLOPROTEINASE-8 LEVELS IN GINGIVAL CREVICULAR FLUID AND SALIVA OF INDIVIDUALS WITH DIFFERENT PERIODONTAL DISEASES

Objectives: The aim of this clinical study was to determine the levels of ferritin, alkaline phosphatase and matrix metalloproteinase-8 in the gingival crevicular fluid (GCF) and saliva of individuals with periodontally healthy (S), gingivitis (G) and periodontitis (P) and to examine the relationships of these molecules with each other and with clinical parameters. In addition, the relationship between the changes in biochemical and clinical parameters from baseline to 1st and 3rd months was evaluated.

Materials and methods: GCF and saliva samples were collected from 60 systemically healthy, non-smoker periodontitis (P group, n = 20), gingivitis (G group, n = 20) and periodontally healthy individuals (S group, n = 20) and all clinical parameters were recorded for all groups at baseline. GCF and serum samplings and clinical records were also repeated at 1st and 3rd months visits for only P group. Ferritin, MMP8, and ALP levels in samples were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results: Total amounts of DOS ferritin were found to be statistically significantly higher in the P and G groups compared to the S group ($p < 0.05$). Saliva MMP-8 values were found to be statistically significantly higher in the P group than in the G and S groups ($p < 0.05$). Saliva ALP values were found to be statistically significantly higher in the P group than in the S and G groups ($p < 0.05$). It is observed that there was a significant decrease in DOS and salivary ferritin and MMP-8 values at 1st and 3rd months visits applied in P group.

In our study, it is thought that ferritin, ALP and MMP-8 may play a role in the pathogenesis of periodontal disease and may be candidates for biomarkers that can be used in the diagnosis of periodontal diseases.

|



İÇİNDEKİLER TABLOSU

TEŞEKKÜR	<u>23</u>
İÇİNDEKİLER TABLOSU	<u>34</u>
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	<u>86</u>
RESİMLER DİZİNİ	<u>108</u>
ŞEKİLLER DİZİNİ	<u>119</u>
TABLolar DİZİNİ	<u>1210</u>
1. GİRİŞ	<u>1311</u>
2. GENEL BİLGİLER	<u>2119</u>
2.1. Periodontal Hastalık Tanımı	<u>2119</u>
2.2. Periodontal Hastalık Sınıflaması	<u>2220</u>
2.2.1. Periodontal ve Gingival Sağlık	<u>2422</u>
2.2.2. Dental biyofilme bağlı gelişen gingivitis	<u>2523</u>
2.2.3. Periodontitis	<u>2624</u>
2.3. Periodontal Hastalık Etiyolojisi	<u>3331</u>
2.3.1. Mikrobiyal dental plağın rolü	<u>3331</u>
2.3.2. Periodontal hastalığın mikrobiyolojisi	<u>3533</u>
2.3.3. Bakteri- konak etkileşiminde bakterilerin rolü	<u>3836</u>
2.3.4. Bakteri- konak etkileşiminde konak cevabının rolü	<u>4139</u>
2.4. Periodontal Hastalık Histopatogenezi	<u>4543</u>
2.4.1. Başlangıç Lezyonu	<u>4644</u>
2.4.2. Erken Lezyon	<u>4745</u>
2.4.3. Yerleşmiş Lezyon	<u>4745</u>
2.4.4. İlerlemiş Lezyon	<u>4846</u>
2.5. Sitokinler	<u>4947</u>
2.5.1. Ferritin	<u>5048</u>
2.5.2. Matriks metalloproteinaz-8	<u>5250</u>
2.5.3. Alkalen fosfataz	<u>5351</u>
2.6. Dişeti Oluğu Sıvısı	<u>5553</u>
2.7. Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi	<u>5957</u>
3. GEREÇ YÖNTEM	<u>6260</u>
3.1. Çalışma Grupları	<u>6260</u>
3.2. Hastaların Klinik Periodontal Durumlarının Değerlendirilmesi	<u>6563</u>
3.2.1. Sondlama cep derinliği	<u>6563</u>
3.2.2. Sondlamada kanama indeksi	<u>6563</u>
3.2.3. Plak indeksi	<u>6664</u>
3.2.4. Gingival indeks	<u>6765</u>
3.3. DOS Örneklerin Elde Edilmesi	<u>6866</u>
3.4. Tükürük örneklerinin eldesi	<u>7068</u>
3.5. Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi	<u>7068</u>
3.6. Laboratuvar İşlemleri	<u>7169</u>
3.6.1. DOS Örneklerinin ELISA İçin Hazırlanması	<u>7169</u>

3.6.2.Tükürük Örneklerinin ELISA İçin Hazırlanması	7169
3.6.3.DOS Ferritin analizi	7169
3.6.4.DOS Alkalen fosfataz analizi	7270
3.6.5.DOS MMP-8 analizi	7270
3.6.7.Tükürük Ferritin analizi.....	7371
3.6.8.Tükürük Alkalen Fosfataz analizi.....	7371
3.6.9.Tükürük MMP-8 analizi	7472
3.7.İstatistiksel Analiz.....	7472
4. BULGULAR	7674
5. TARTIŞMA.....	8584
5.1. Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması	8988
5.1.1. Ferritin bulguları	8988
5.1.2. ALP bulguları	9291
5.1.3. MMP-8 bulguları	9695
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	10099
ÖZET	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.100
SUMMARY	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.101
KAYNAKLAR.....	102
ÖZGEÇMİŞ	124125

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- MDP:** Mikrobiyal dental plak
- P.gingivalis:*** *Porphyromonas gingivalis*
- T. forsythensis:*** *Tannerella forsythensis*
- T.denticola:*** *Treponema denticola*
- P.intermedia:*** *Prevotella intermedia,*
- A.a.:*** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- IL-1:** İnterlökin-1
- IL-6:** İnterlökin-6
- PGE2:** Prostaglandin E2
- TNF- α :** Tümör nekroz faktör- α
- MMP:** Matriks metalloproteinaz
- LPS:** Lipopolisakarit
- DOS:** Dişeti oluğu sıvısı
- PMNL:** Polimorfonükleer lökosit
- SF:** Serum ferritin
- IL-1 β :** İnterlökin-1 β
- ALP:** Alkalen fosfatazlar
- AAP:** Amerikan Periodontoloji Akademisi
- EFP:** Avrupa Periodontoloji Federasyonu
- ESM:** Ekstraselüler matriks
- F.nucleatum:*** *Fusobacterium nucleatum*
- A. viscosus:*** *Actinomyces viscosus*
- A.naeslundii:*** *Actinomyces naeslundii*
- S.sangius:*** *Streptococcus sangius*
- S.mitis:*** *Streptococcus mitis*
- S. oralis:*** *Streptococcus oralis*
- S. intermedius:*** *Streptococcus intermedius*

P. micros: *Peptostreptococcus micros*

V. parvula: *Veillonella parvula*

TLR: Toll-benzeri reseptör

IL-8: Interlökin 8

NH₃: Amonyak

H₂S: Hidrojen sülfür

ASH: Antijen sunan hücreler

MAC: Membran saldırı kompleksi

PMN: Polimorfnükleer nötrofil

NETs: nötrofil ekstraselüler tuzaklar

SCD: Sondlama cep derinliği

KAS: Klinik ataşman seviyesi

Pİ: Plak indeksi

Gİ: Gingival indeks

SKİ: Sondlamada kanama indeksi

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. DOS örneğinin elde edilişi	6967
Resim 2. Periotron® 8000 cihazı	7068



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Oral bakteri kolonizasyonu	3634
Şekil 2. Periodontitis patogenezi.....	4947
Şekil 3. Çalışma planı.....	6462
Şekil 4. Sondlama cep derinliği formülü	6563
Şekil 5. Sondlamada kanama indeksi formülü	6664
Şekil 6. Plak indeksi formülü.....	6765
Şekil 7. Gingival indeks formülü	6866



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Şiddet (interdental klinik ataşman kaybı seviyesine göre), karmaşıklık, kapsam ve dağılıma göre tanımlanmış evreleme sistemine dayanan periodontitis sınıflaması.....	2927
Tablo 2. Periodontitis derecelendirmesi.....	3230
Tablo 3. Sondlamada kanama skorları.....	6664
Tablo 4. Plak indeksi skorları.....	6664
Tablo 5. Gingival indeks skorları.....	6765
Tablo 6. Cinsiyet ve Yaş Değişkenlerine Göre Grupların Karşılaştırılması...	7674
Tablo 7. Grupların Gingival İndeks (Gİ), Sondalamada Kanama İndeksi (SKİ), Plak İndeksi (Pİ), Sondalama Cep Derinliği (SCD) ve Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS) Hacim Değerlerine Göre Karşılaştırılması*.....	7674
Tablo 8. Ferritin Değişkenlerinin Gruplara Göre Karşılaştırılması*.....	7876
Tablo 9. MMP-8 Değişkenlerinin Gruplara Göre Karşılaştırılması*.....	7876
Tablo 10. ALP Değişkenlerinin Gruplara Göre Karşılaştırılması*.....	7977
Tablo 11. Periodontitisli grupta Gingival İndeks (Gİ), Sondalamada Kanama İndeksi (SKİ), Plak İndeksi (Pİ), Sondalama Cep Derinliği (SCD) Ve Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS) Hacim Değerlerinin Ölçüm Zamanlarına Göre Karşılaştırılması.....	8078
Tablo 12. Periodontitisli grupta Ferritin Değişkenlerinin Ölçüm Zamanlarına Göre Karşılaştırılması.....	8179
Tablo 13. Periodontitisli grupta MMP-8 Değişkenlerinin Ölçüm Zamanlarına Göre Karşılaştırılması.....	8179
Tablo 14. Periodontitisli grupta ALP Değişkenlerinin Ölçüm Zamanlarına Göre Karşılaştırılması.....	8280
Tablo 15. Gİ, SKİ(%), Pİ ve SCD'nin Ferritin, MMP-8 ve ALP ile korelasyonları.....	8381
Tablo 16. Periodontitisli grupta ferritin miktarlarının total(ng/30sn), konsantrasyon (ng/µl) ve tükürük (ng/µl) arasındaki değişkenlerin korelasyonu.....	8482

1. GİRİŞ

Periodonsiyum; alveolar mukoza, dişeti, periodontal ligament, alveoler ve destekleyici kemiği içeren, dişleri saran ve destekleyen dokulardan oluşmaktadır (1). Bu dokuları etkileyen hastalıklar da “periodontal hastalıklar” olarak isimlendirilmektedir (2). Periodontal hastalıklar patojenik mikroorganizmalar tarafından başlatılan, karmaşık bir konak-mikroorganizma ilişkisi içerisinde ilerleyen ve sonuç olarak periodonsiyumun destek dokularının yıkımıyla karakterize olan hastalıklardır (3). Periodonsiyumun en yaygın görülen ve araştırılan hastalıkları plağa bağlı gingivitis ve periodontitistir (4) Mikrobiyal dental plak (MDP) bakterilerince başlatılan bakteri ve ürünlerine karşı konağın verdiği immüno-enflamatuvar cevap sonucu gelişen gingivitis tedavi edilmediği takdirde ataşman kaybı ve cep oluşumu ile karakterize periodontitise dönüşebilmektedir (4, 5). Periodontal hastalıklar, sürekli aynı şekilde ve aynı şiddetle ilerleyen yapıda değildir; birbirini izleyen, bağ dokusu ve alveoler kemik yıkımının olduğu aktif dönem ve kısmen bir miktar tamirin olduğu pasif dönemlerden oluşan epizodik tarzda bir ilerleme göstermektedir (6). Periodontal hastalıklar epizodik ve kronik doğasının yanı sıra bireyler arasında farklı ilerleme gösterebilir; aynı bireyde, farklı dişlerde hastalığın şiddeti ve yaygınlığı farklı olabilir. Hastalığın tanısında kullanılan sondlanabilen cep derinliği ölçümü, ataşman kaybı miktarı, dişeti kanamasının olup olmaması, alveol kemiğinin seviyesinin radyografik olarak değerlendirilmesi gibi ölçümler geçmişte oluşan yıkım hakkında bilgi verirken; hastalığın aktif ve pasif evrelerinin kesin ayrımı hakkında yeterli bilgi sağlamaz (7). Gingivitis; bakteri plağına bağlı gelişen, dişleri çevreleyen destek dokularda kaybın olmadığı dişeti enflamasyonudur. Oral hijyen prosedürlerinin yerine getirilmesiyle yaklaşık 1 hafta içinde, kendiliğinden iyileşen tersinir bir durumdur (8). Diş çevreleyen dokularda bakteriyel plağına karşı gelişen enflamasyonun kontrol altına alınmadığı durumlarda ataşman ve kemik kaybı meydana gelir (9). Genel olarak kabul edilen görüş, tedavi edilmeden bırakılan gingivitis lezyonlarının duyarlı bireylerde periodontitise ilerleyebileceği yönündedir (10). Klinik ataşman ve diş kayıplarıyla sonuçlanan periodontitis için en önemli hazırlayıcı faktör tartışmasız kötü oral

hijyendir. Çünkü periodontitis lezyonlarının temel etiyolojik faktörü dişler üzerinde organize olan ve yapısında çok sayıda patojenik bakteriyi içeren MDP'dir (11). Periodontal hastalıkların başlaması için bakteriyel plak varlığı zorunlu olsa da, periodontitisin klinik belirtileri olan periodontal cep oluşumu, ataşman kaybı ve alveoler kemik yıkımı konak kaynaklı immunoenflamatuvar olayların bir sonucudur (12). MDP'nin içinde yer alan ve kırmızı kompleks olarak nitelendirilen *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*), *Tannerella forsythensis* (*T.forsythensis*), ve *Treponema denticola* (*T.denticola*)'nın aktif periodontitis lezyonlarının oluşumunda büyük rol oynadığı belirtilmektedir (13).

Tam bir plak kontrolü, diş yüzeyi temizliği, kök yüzeyi düzleştirilmesi ve lokal etiyolojik faktörlerin ortadan kaldırılmasını içeren cerrahisiz periodontal tedavi, tüm periodontal hastalıkların tedavisinin ilk basamağı ve temeli olarak kabul edilmektedir. MDP ve diş taşlarının diş yüzeylerinden mekanik olarak uzaklaştırılması, periodontitis için standart tedavi protokolü olarak kabul edilir (14). Cerrahisiz periodontal tedavide ise hedef cep derinliklerinin hastanın ağız hijyenini sağlayabileceği fizyolojik sınırlara getirilmesidir (9).

Bakterilerin ve bakteriyel ürünlerin, doğrudan ve dolaylı olarak periodontal doku yıkımına neden olduğu bilinmektedir. Bu bakteri ve bakteri ürünlerine karşı konak tarafından üretilen proteinazlar, sitokinler ve prostaglandinler konak yıkımına sebep olmaktadır (15). Sitokinler, hücreler arası mesaj alıp verici olarak iş gören peptid yapıda moleküller olup enfeksiyon hastalıklarında, bağışıklık yanıtının oluşmasında ve hücreler arası etkileşimde rol oynamaktadırlar (16). Ayrıca lökositler ve diğer hücrelerin hareketlerine, gelişmelerine ve farklılaşmalarına etki yaparak, konağın yabancı antijenlere ve zarar verici etkenlere karşı reaksiyonlarını düzenlerler (15).

Sitokinler, farklı efektör hücrelerin aktivasyonu ve üretimi üzerine majör etkili, hücresel düzenleyici ve düşük ağırlıklı proteinlerdir. Birçok fizyolojik yanıtta, önemli rol oynayan geniş bir hücre grubu tarafından üretilmelerine rağmen, ana kaynakları T hücreleri ve makrofajlardır (17). Sitokinler, immünitinin ve enflamasyonun başlamasıyla ilişkili olup, konak cevabının büyüklüğünü ve süresini düzenlerler (12).

Konak ve bakteriler arasındaki çift yönlü etkileşimle tetiklenen immunoenflamatuvar olaylar zincirinde interlökin (IL)-1, IL-6, prostaglandin E2 (PGE2) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi proenflamatuvar sitokinler; ve matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) gibi endopeptidazların konak dokularınca fazla miktarda üretilmesi, periodontal yıkıma yol açmaktadır (18). Periodontitis gibi lokal enflamatuvar lezyonlar, etkilenen dokularda ve sistemik dolaşımında sitokin, prostaglandin ve MMP gibi biyolojik belirteçlerin seviyelerinde belli oranda değişikliklere neden olmaktadır (19, 20).

Enflamasyonlu ve ülsere periodontal cep epiteli, oral patojenler için kolay bir geçiş yeri olduğuna dair güçlü bulgular mevcuttur ve bu durum gün içerisinde kısa süreli bakteriyemilere neden olmaktadır. Ayrıca çeşitli mikrobiyal antijenler ve bakteriyel endotoksin olan lipopolisakaritler (LPS) tüm vücuda periodontal lezyonlardan yayılabilmektedir. Bunun yanında, lokal üretilen proenflamatuvar bazı sitokinler sistemik dolaşıma katılmakta ve uzak organlarda etkilere sebep olabilmektedir. Her ne kadar bu sitokinlerin artması normal referans aralığından çok farklı olmasa da, proenflamatuvar sitokin seviyelerindeki ufak artışlar vücutta bulunan başka bir önemli enflamatuvar olayı (kardiovasküler ve serebrovasküler enflamasyon gibi...) şiddetlendirebilmektedir (11).

Dişeti oluğu sıvısı; (DOS) diş çevreleyen dişeti oluğu/periodontal cepten toplanabilen, "serum transudası" ya da daha sıklıkla "enflamatuvar eksuda" olarak adlandırılmaktadır. Bu sıvı, serumun içeriğini yansıtabilmekte, aynı zamanda periodonsiyumda bulunan hücresel yanıtı da göstermektedir. DOS örneklerinin toplanması ve analizi, periodonsiyumun patofizyolojik durumunun değerlendirilmesinde önemli yer tutmaktadır. DOS hem konak hem de subgingival/supragingival plak bileşenlerini içerebilmektedir. Konak kaynaklı sitokinler, enzimler ve IL'ler gibi enflamasyon belirteçleri DOS'ta tespit edilebilmektedir (21).

MMP'ler yaklaşık 28 enzimden oluşan, hücre-matriks kompozisyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan ekstrasellüler proteazlardır. MMP'lerin embriyonik gelişim, enflamasyon, immün yanıt, yara iyileşmesi, bağ dokusunun şekillenmesi, kemik remodelasyonu, anjiyogenez ve apoptozis gibi birçok fizyolojik

olayda rolleri vardır. MMP'ler periodontal dokuların yıkımında anahtar medyatör olarak belirtilmektedir (23). Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile onların spesifik endojen doku inhibitörleri arasında sürekli bir denge söz konusudur. Bu dengenin MMP aktivitesi yönüne kayması, matriksin yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşmasına neden olmaktadır. MMP'ler sağlıklı dokularda düşük düzeyde sentezlenirler. Çeşitli hormonlar, büyüme faktörleri ve proenflamatuvar sitokinler MMP'lerin aktivasyonunu artırır (24).

Dişeti, periodontal ligament ve alveoler kemik farklı tiplerde kollajen içermektedir. Tip 1 ve 3 kollajen periodontal dokulardaki kollajenin yaklaşık % 60'ını oluşturmaktadır. MMP-8, Tip 1, 2 ve 3 kollajenlerin hepsini hidrolize etse de Tip 1 kollajeni diğerlerine göre daha hızlı yıkıma uğratar ve periodontitisteki yıkımda esas kollajenazdır (25).

MMP-8'in hücrel kaynağının, esasen inflamasyonlu dişetinde bulunan, uzaklaşmış ve degranüle olmuş nötrofiller olduğu düşünülmektedir (26). Bununla birlikte, inflamasyonlu dişetinde artmış miktarlarda MMP-8 ve protein kopyaları görülebilmektedir. MMP-8 kopyaları ve enzim proteinleri insan gingival ve periodontal ligament fibroblast ve kondrositleri gibi, mezenkimal hücrelerin MMP-8 üretme kabiliyetini gösteren henüz indüklenmiş non-nötrofil kökenli mezenkimal hücrelerinde görülmektedir (27).

Çeşitli araştırmalar periodontitisli bölgelerden veya inflamasyonlu dişeti bölgelerinden elde ettikleri dişeti veya DOS örneklerinde MMP-8'in arttığını ortaya koymuştur (28). Erişkin periodontitisli hastaların dişeti oluşu sırasında görülen major kollajenazın MMP-8 olduğu literatürde kanıtlanmıştır (29). DOS'ta bulunan kollajenazın periodonsiyumun ekstraselüler matriksinin fizyolojik ve patolojik katabolizmasını yansıttığı düşünülmektedir (30).

MMP-8'in latent formunun gingivitis ile ilişkili olduğu bulunurken periodontitisteki doku yıkımından aktif MMP-8'in sorumlu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca periodontitis ve periimplantitisli hastaların DOS'unda baskın MMP olarak polimorfonükleer lökosit (PMNL) kaynaklı MMP-8 olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Periodontitisli bireylerdeki DOS ve dişeti MMP-8 aktivitesinin, sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu bildirilmektedir (31).

Ferritin, 1937 yılında, yeni bir protein olarak Fransız bilim adamı Laufberger tarafından at dalağında izole edilmiştir (32). Serum ferritin (SF) miktarı ancak ferritin ve anti-ferritin antikorlarının saflaştırılması ve hassas immünoanaliz tekniklerinin geliştirilmesi sayesinde belirlenmeye başlandı (33). Serum ferritin düzeyi ile toplam vücut demir depoları arasındaki ilişkiyi belirlemek için, normal bir popülasyonda serum ferritin, demir eksikliği olan hastalar ve aşırı demir yükü olan bireylerden ölçümler yapılarak aşırı demir yükü olan hastalarda serum ferritinin yükseldiğini ve demir eksikliği hastalığı olanlarda azaldığını gösterilmiştir (34). Jacobs ve Worwood, serum ferritin tahlillerinin “demir depolanmanın durumunu değerlendirmek için yararlı ve kullanışlı bir yöntem” olarak kullanılabilirliğini öne sürmüşlerdir (35). Ferritin, çoğu dokuda bir sitosolik protein olarak bulunmaktadır ancak yakın zamanda da bir mitokondriyal form tanımlanmış ve nükleer lokalizasyon ve fonksiyonlarının olduğu öne sürülmüştür (36). Ferritin, hücre içi demirin depolanmasında önemli bir rol oynamaktadır (37). Ferritin, H ve L olarak adlandırılan iki tip alt birimden oluşan 24 alt birimli bir proteindir. H insan kalbinden izole edilen daha ağır olan isoform formunu tanımlamaktadır. L ise insan karaciğerinden izole edilmiş daha hafif olan ferritin anlamına gelir. Normalde plazmadaki düzeyi, hücre içindeki ferritin miktarı ile orantılıdır. Birleştirilmiş ferritin proteini içindeki H'nin L alt birimlerine oranı, doku tipine ve gelişim evresine bağlı olarak değişmektedir. İnsan ferritininin H ve L alt birimlerini kodlayan genler, sırasıyla 11q ve 19q kromozomları üzerinde bulunur (38). Hem H hem de L ferritin çoklu psödogenlere sahiptir (39). Memelilerde ferritin H ve L alt birimleri arasındaki amino asit dizisi benzerliği yaklaşık % 50'dir; alt birim tipleri arasındaki dizi koruması daha da fazladır (40).

Serum ferritininin ayrıntılı salgı yolu tam olarak anlaşılamamıştır. Hepatositlerin, makrofajların ve Kupffer hücrelerinin ferritin salgıladıkları gösterilmiştir (41). L ferritin geleneksel bir sekreter sinyalinin olmamasına rağmen, serum ferritin L ve doku ferritin L'nin aynı gen tarafından kodlandığı görülmüştür. Ferritin L, klasik salgı yoluyla ferritin L cDNA ile transfekte edilmiş hepatositlerden salgılandığı gösterilmiştir (42). Kültürlenmiş hücre ortamına ferritin salgılanması, demir ve interlökin-1 β (IL-1 β) ve TNF- α ile artmaktadır (43). Serum ferritin seviyesi,

klirik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır ve demir yükünü tespit etmek için en uygun ve uygun maliyetli yöntem olarak kabul edilmektedir (44).

Hastalığı ve sağlığı ve izlemek için, toplanması invaziv olmayan, yüksek tekrarlanabilirliğe sahip, güvenli ve ucuz bir sıvı olan tükürük potansiyel bir tanı aracı olarak karşımıza çıkmaktadır (45). Tükürük ferritin düzeyleri periodontitis ve Tip 2 diyabetli hasta gruplarında anlamlı olarak yüksek bulunmuş olup bu artış serum ferritin seviyesi ile doğru orantılıdır. Bu sonuçlara dayanarak, tükürük ferritin seviyesinin vücut demir yükü için bir referans olarak kabul edilebileceği söylenmiştir (46).

Alkalen fosfatazlar (ALP) aktif merkezde serin içeren çinko metalloenzim ailesindedir. Çok sayıdaki organik fosfat esterlerinin hidrolizlerini özellikle alkali pH'da katalizleyen enzim grubudur. Çeşitli ortofosfatlardan inorganik fosfatların salınımına neden olurlar ve hemen hemen tüm dokularda mevcuttur. Doğal substratların pirofosfat, fosfoserin ve fosfoditiletanolamin olduğu düşünülmektedir ve intestinal alkalen fosfataz Ca²⁺ iyonuna bağımlı ATPaz gibi aktivite gösterebilir (47). Alkalen fosfataz ilk defa Tamman tarafından gündeme getirilmiş, Yoshimura ve Takaishi tarafından tanımlanarak, fosfat esterlerini hidrolize etme kapasitesine sahip enzim sistemleri grubuna dahil edilmiştir (48). İlk olarak kemik ve böbrekten izole edilmiş olan alkalen fosfatazlar (49), enzim, insan ve hayvan dokularının hemen hemen hepsinde, bazı bitki türlerinde, balıklarda, bakteri ve mantarlarda yaygın olarak bulunmaktadır (50). Alkali ortamda fosfatları hidrolize ettiği için alkalen fosfataz olarak adlandırılır ve pH>7 ise aktivite gösterir. Karaciğer, kemik, bağırsak, böbrek, plasentada bulunan ve kemik dokuda osteoblastlardan salgılanan bir enzimdir (51).

Serum ALP aktivitesi en sık kullanılan kemik yapım belirleyicisidir. ALP, kemikte pirofosfatı hidrolize ederek, hidroksiapatit kristallerinde depolanmak üzere gerekli olan fosfatı sağlar ve mineralizasyonu aktive eder. Bağırsak, plasenta ve kemik karaciğer-böbrek olmak üzere üç farklı genden kaynaklanan izoenzimler şeklinde bulunur. Kemik, karaciğer ve böbrek izoenzimleri aynı genin ürünü olmakla birlikte, her birinde farklı karbonhidrat yan zincirleri gibi dokuya özgü değişimler bulunur. Dolaşımdaki ALP aktivitesinin çoğunluğu kemik ve karaciğer izoenzimleri ile ilişkili olup, bağırsak izoenziminin katkısı azdır. Hepatobiliyer ve kemik kaynaklı hastalıkların değerlendirilmesinde kullanılır. Sağlıklı çocuklarda süt çocukluğunda

yüksek iken daha sonraki dönemde yaşla paralel olarak azalır. Çocuklarda % 80 kemik kaynaklıdır.

Serumdaki ALP aktivitesi kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve ALP'nin, kalsiyum-fosfat komplekslerinin osteoid matriks içerisine birikmesine katkıda bulunan bir organik fosfat bırakarak kemik mineralizasyonuna yardımcı olduğu gösterilmiştir. ALP, inorganik pirofosfatı hidrolize ederek mineralleşmeyi de teşvik etmektedir. Ekstraselüler kalsifiye matriks veziküller içinde hidroksiapatit kristal oluşumu ve çözünmesinde de güçlü bir inhibitör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

ALP, polimorfonükleer lökositler, osteoblastlar, makrofajlar ve periodonsiyum ve dişeti oluşu içindeki fibroblastlar gibi birçok hücre tarafından üretilen membrana bağlı bir glikoproteindir. ALP'ler, periodontal durum ve hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelemek için sıklıkla DOS'ta ölçülmüştür (52). Peri-implantit olan ve olmayan implantlardan alınan DOS'ta ALP araştırılmış ve ALP'nin dental implantlar etrafında kemik kaybının (belirlenmesinde) ümit verici bir belirteç olabileceği öne sürülmüştür (53). Periodontitisli hastaların serumlarında ALP aktivitesinin incelenmesi sonucunda periodontal hastalıkta ataşman kaybı ile serum ALP aktivitesi arasında ilişki olduğunu gösterilmiştir (54). Sekiz hasta üzerinde yapılan longitudinal bir çalışmada DOS ALP konsantrasyonu ile ataşman kaybı arasında pozitif bir korelasyon gösterilmiştir (55).

ALP'nin, DOS'ta periodontal hastalık aktivitesinin saptanması ve tanısı için potansiyel olarak güçlü bir belirteç olduğu daha önce gösterilmiştir. Periodontitis hastalarından elde edilen DOS'taki ALP düzeylerinin araştırıldığı çalışmada, sondlama cep derinliği ve ortalama kemik kaybı ile pozitif ve anlamlı bir şekilde korele olduğunu bildirmiştir (56). Mevcut bilgilerimize göre; literatürde ferritin, MMP-8 ve alkalen fosfataz değerlerinin DOS ve tükürük örneklerinde periodontal hastalık açısından değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı; sağlıklı, gingivitisli ve periodontitis'li bireylerden alınan tükürük ve DOS örneklerindeki ferritin, MMP-8 ve ALP seviyelerini karşılaştırmalı olarak inceleyerek bu sitokinlerin periodontal hastalık varlığındaki değişimlerini

araştırmak, hastalık tanısında kullanılabilme potansiyellerini veya ileride bu sitokin ve enzim yolakları üzerinden yapılabilecek olan tedavilere ışık tutmayı planlamaktır.

Bu çalışmanın birinci hipotezi; “periodontal hastalığa sahip bireylerden, cerrahisiz periodontal tedavi sonrası alınan DOS ve tükürük örneklerindeki sitokinler ile sağlıklı bireylerin seviyeleri arasında istatistiksel olarak fark yoktur”. İkinci hipotez ise “periodontisli bireylerde başlangıç ile tedavi sonrası sitokin seviyeleri arasında fark yoktur”.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalık Tanımı

Periodontal hastalıklar mikrobiyal dental biyofilm birikimi sonucunda belirli mikroorganizmalara ve/veya mikroorganizma gruplarına karşı gelişen, dişin destek dokularında enflamasyonla karakterize olan kronik enfeksiyöz hastalıklara verilen isimdir (57). Birçok enfeksiyöz hastalıkta olduğu gibi periodontal hastalıklarda da patojenik mikroorganizma konakta kolonize olmasına karşın, hastalığın klinik özellikleri her zaman ortaya çıkmayabilir (58). Periodontal hastalığa bağlı oluşan doku yıkımının miktarı ve hızını konağın verdiği yanıt belirlemektedir (59). Periodontal hastalık patogenezindeki yeri yapılan birçok çalışma ile sabitlenen bakteriler; *P.gingivalis*, *T.forsythensis* ve *A.a.*'dir. Periodontal hastalık "multibakteriyel enfeksiyon" olarak da tanımlanabilir. Bazı bakteriler, patojenik etki göstermese de, diğer patojenik bakterilerle kommensal etkileşimde bulunarak hastalığın ilerlemesinde rol sahibi olabilirler (57). Periodontal hastalıklara sebep olan bakteriler konak dokularındaki yıkıcı etkilerini sahip oldukları virülans faktörleri ile doğrudan ya da konak yanıtını uyararak dolaylı olarak gösterebilmektedirler. Bakterilerin varlığı hastalık oluşumu için gereklidir ancak yeterli değildir. Periodontal hastalıklarda, doku yıkımı mikrobiyal faktörler tarafından başlatılsa da, doku yıkımı büyük ölçüde gram negatif bakterilerdeki lipopolisakkaritlere karşı konak tarafından üretilen enzimler nedeniyle gerçekleşmektedir (60).

Yapılan kısa dönemli çalışmalarda oral hijyenin ve bakımın bırakıldığı durumda saatler içerisinde temiz diş yüzeylerinde bakteri kolonilerinin oluştuğu gösterilmiştir. 24-48 saat gibi kısa süre içerisinde gingivitisin mikroskobik ve klinik semptomları görülmeye başlamaktadır. Fakat bu durum kalıcı olmayıp tekrar oral hijyenin sağlandığı durumlarda semptomlar geri dönmekte ve hastalık iyileşmektedir (61, 62). Oral hijyenin sağlanamadığı ve hastalığın tedavi edilmediği durumlarda gingivitis periodontitise dönüşebilmektedir (63). Ancak, her gingivitis periodontitise dönüşmez. Bu durum konağın immün yanıtı ve sistemik enlamatuvar durumuna göre kişiden kişiye farklılık gösterebilmektedir (64). Ayrıca, aynı hastada farklı dişlerde ve aynı dişin değişik bölgelerinde farklı hızda gelişebilmektedir. Dişlerin ağız

içerisindeki konumları da hastalıktan etkilenme sıklığını etkileyebilir. Mesela üst molarlar alt molarlara göre daha fazla etkilenirken, alt keserlerde üst keserlerden fazla etkilenir. Bu özellikleri ile periodontitis alan spesifik bir hastalık olduğu belirtilmektedir (65).

Ayrıca enflamatuvar yanıtı etkileyen nötrofil fonksiyon bozuklukları ve nötropeni gibi durumlardada bireylerde gingivitisten periodontitise geçiş daha hızlı olmakta ve periodontal dokunun yıkımı daha şiddetli olabilmektedir (66).

2.2.Periodontal Hastalık Sınıflaması

Periodontal hastalıkların için günümüze kadar farklı sınıflamalar yapılmıştır. Amerikan Periodontoloji Akademisinin (AAP) 1999 yılında yapmış olduğu sınıflama uzun yıllar kullanılmıştır (67).

1999 yılında Uluslararası Periodontoloji Workshop'unda kabul edilen şekliyle periodontal hastalıkların sınıflaması (67)

I. Dişeti hastalıkları

A. Dental plağa bağlı dişeti hastalıkları

1. Sadece dental plağa bağlı gingivitis
2. Sistemik hastalıklar tarafından modifiye edilmiş dişeti hastalıkları
3. İlaçlar tarafından modifiye edilmiş dişeti hastalıkları
4. Beslenme bozukluğu tarafından modifiye edilmiş dişeti hastalıkları

B. Plağa bağlı olmayan dişeti hastalıkları

1. Belirli bir bakteriyel kökeni olan dişeti hastalıkları
2. Viral kökenli dişeti hastalıkları
3. Mantar kökenli dişeti hastalıkları
4. Genetik kökenli dişeti hastalıkları
5. Sistemik durumların dişeti belirtileri
6. Travmatik lezyonlar
7. Yabancı madde reaksiyonları
8. Tanımlanmamış lezyonlar

II. Kronik Periodontitis

- A. Lokalize
- B. Generalize

III. Agresif Periodontitis

- A. Lokalize
- B. Generalize

IV. Sistemik hastalıkların göstergesi olan periodontitis

- A. Hematolojik bozukluklarla ilişkili
- B. Genetik bozukluklarla ilgili
- C. Tanımlanmamış durumlar

V. Nekrotizan periodontal hastalıklar

- A. Nekrotizan ülseratif gingivitis
- B. Nekrotizan ülseratif periodontitis

VI. Periodonsiyum Apseleri

- A. Periodontal apseler
- B. Perikronal apseler

VII. Endodontik lezyonlarla ilişkili periodontitis

- A. Kombine periodontal- endodontal lezyonlar

VIII. Gelişimsel veya kazanılmış deformiteler veya durumlar

- A. Plağa bağlı dişeti hastalıklarına /periodontitise yatkınlığı arttıran veya değiştiren lokalize diş bağli faktörler
- B. Dişin etrafındaki mukogingival bozukluklar ve durumlar
- C. Dişsiz kretlerdeki mukogingival bozukluklar ve durumlar
- D. Okluzal travma

2017 yılında Avrupa Periodontoloji Federasyonu (EFP) yeni bir periodontal hastalık sınıflaması yayınlamıştır (68).

Periodontal ve peri-implant hastalıkların ve koşullarının sınıflandırılması (2017)

I. Periodontal hastalıklar ve durumlar

A. Periodontal sağlık, gingival hastalıklar ve durumlar

1. Periodontal sağlık ve gingival sağlık
2. Gingivitis: Dental biofilm kaynaklı
3. Gingival hastalıklar: Dental biofilm kaynaklı olmayan

B. Periodontitis

1. Nekrotizan periodontal hastalıklar
2. Periodontitis
3. Sistemik hastalıklarla ilişkili periodontitis

C. Periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar

1. Periodontal destek dokuları etkileyen sistemik hastalıklar ve durumlar
2. Periodontal apseler ve endodontik-periodontal lezyonlar
3. Mukogingival deformiteler ve durumlar
4. Travmatik okluzal kuvvetler
5. Diş ve protez kaynaklı faktörler

II. Peri-implant hastalıklar ve durumlar

A. Peri-implant sağlık

B. Peri-implant mukozit

C. Peri-implantitis

D. Peri-implant sert ve yumuşak doku yetersizlikleri

2.2.1. Periodontal ve Gingival Sağlık

“Sağlık, hastalık ya da bir sakatlıktan olmayan ortamda tam bir fiziksel, zihinsel ve sosyal refah durumudur.” Dünya Sağlık Örgütü'nün bu tanımına dayanarak periodontal sağlık, “bir bireyin normal olarak işlev görmesini sağlayan ve mevcut hastalđı olmayan ya da geçmişte herhangi bi hastalđıya sahip olmamış ve bu hastalıklara bağlı sonuç göstermeyen enflamatuvar periodontal hastalıktan uzak bir durum” olarak belirtilir. Bu tanım bütüncül ve hasta-sonuç temeline dayanmakla birlikte, periodontal hastalıkların klinik seyri göz önünde bulundurulduğunda sınırlayıcı bir tanım olarak görünmektedir. Bu nedenle periodontal

sağlığın daha pratik bir tanımı, “**ateşli periodontal hastalıktan uzak olma durumu**” olacaktır. Daha önce hastalık süreçlerinden kaynaklanmış değişen morfolojik koşulların, klinik işaretlerin ve hastalık belirtilerinin yokluğunda yeni sağlıklı koşullar olarak kabul edilip edilemeyeceği tartışmalıdır. Saf olan klinik sağlık terimi, nadir fakat gerçekçi bir varlığı temsil etmekte, yani ataşman kaybı, sondlamada kanama, kızarıklık, klinik şişme/ödem veya püden yoksun olma durumudur (69).

Periodontal ve gingival sağlık; sondlamada kanama, dişetinde pü, ödem, renk değişikliğinin olmadığı ve sondlama cep derinliğinin 3mm ya da daha az olduğu durumlardır. Periodontal sağlık; periodonsiyumun etkilenmediği gingival sağlık ve periodonsiyumun etkilendiği/azaldığı gingival sağlık olarak iki grupta incelenir. Periodonsiyumun etkilendiği/ azaldığı gingival sağlık; stabil periodontitis ve periodontitis olmayan hastalar olarak ikiye ayrılmıştır. Stabil periodontitis; periodontitisin tedavi edildiği, sondlamada kanama, eritem, ödem ve derin periodontal ceperin görülmediği, fakat ataşman kaybıyla birlikte kemik kaybının olduğu durumu ifade etmektedir. Periodontitis olmayan bireyler ise dişeti çekilmesi olan ve kron boyu yükselmesi yapılan kişileri kapsamaktadır (70).

2.2.2. Dental biyofilme bağlı gelişen gingivitis

Dental biyofilme bağlı gelişen gingivitis; dişlerin üzerinde dental biyofilm birikimiyle başlayan, dişetinde ödem ve kızarıklık, sondlamada veya spontan kanama, dişeti oluşu sırasında artış bulgularının eşlik ettiği, radyografik olarak kemik kaybı görülmeyen periodontal bir hastalıktır (71). Dişeti oluşunda veya yakın bölgelerinde biriken dental plak bakterilerine karşı konak savunma sistemi arasındaki dengenin konak aleyhine bozulmasıyla oluşan lokal enflamatuvar yanıt olarak tanımlanabilir (72).

Gingivite oluşan enflamasyon dişetiyle sınırlı kalmaktadır (73). Enflamatuvar yanıtla ilgili ortaya çıkan vazodilatasyon sonucu dişetin rengi pembeden kırmızıya, ödeme bağlı olarak dişeti kenarı bıçak sırtı şeklinden küt şekle döner. Bağ dokusunda kollojen yıkımına bağlı olarak dişeti, tıkız kıvamını kaybeder, mat ve stiplingli yüzey yapısı parlak ve düzgün bir yüzey yapısına dönüşür (74).

Sondlamada kanama ve dişeti oluğu sıvısında artış, hastalığın en erken iki bulgusu olarak gösterilmiştir (71).

Dental plak birikiminde artış ve plağın mikrobiyal yapısındaki değişimler gingivitisin ana nedenleri olarak belirtilmekte, bu sebeple plak birikiminin kontrolünü sağlamak ve dişeti iltihabını önlemek amacıyla ağız hijyen prosedürlerini yerine getirmek oldukça önemlidir (75). Oral hijyen prosedürleri uygulandığında gingivitis geri dönüşebilen bir süreçtir ancak dişeti iltihabı kronikleşirse geri dönüşümsüz periodontitis aşamasına geçerek diş kaybına yol açabilir (76).

Gingivitisin klinik belirtileri, bireyler arasında hatta aynı bireyin farklı bölgelerinde farklı şiddetlerde gözlenebilmektedir (77). Bireylerde gingivitis gelişme olasılığının farklı olması çeşitli lokal ve sistemik faktörlere bağlanabilmektedir. Lokal faktörler arasında; diştışı varlığı, uygunsuz restorasyon varlığı, ortodontik tedavi ile ilgili komplikasyonlar, dişin anatomik yapısı, kök çürüğü gibi plak tutulumunu arttıran durumlar yer almaktadır (77, 78). 1999 yılında yapılan periodontal hastalık sınıflamasında plağa bağlı gingivitisin çeşitli sistemik faktörlerden de etkilendiği belirtilmiştir (67). Hamilelik, puberte, diyabet ve menstrual döngü gibi metabolik faktörlerin yanı sıra Down Sendromu ve Papillon- Lefevre Sendromu gibi genetik hastalıklar bu faktörler arasında sayılabilmektedir (79, 80). Gingivitis oluşumunu etkileyen metabolik ve genetik faktörlerin yanı sıra çeşitli çevresel faktörler de belirtilmiştir. Bu faktörlerin başında sigara kullanımı bulunmaktadır (81). C vitamini eksikliği, çeşitli ilaçlar (kalsiyum kanal blokerleri, siklosporin, fenitoin, oral kontraseptifler, nonsteroid antiinflamatuvar ajanlar, antibiyotikler) (74), immün yetersizlik, lösemi, AIDS gibi hastalıklar ve fiziksel stres de gingivitis oluşumunu ve şiddetini etkileyen diğer faktörler olarak belirtilmiştir (82).

2.2.3. Periodontitis

Periodontitis diş destek dokularının MDP içerisindeki mikroorganizmalara karşı dokunun verdiği enflamatuvar yanıtla başlayan; hastanın dişeti biyotipiyle de alakalı olarak patolojik cep formasyonu, dişeti çekilmesi veya her ikisinin oluşumu ile

birlikte, diş destek dokularında yıkıma neden olarak; diş kaybı, çiğneme fonksiyonları ve estetik problemlere yol açan enflamatuvar bir hastalıktır (5).

Tedavi edilmemiş periodontitiste klinik olarak;

- Supragingival- subgingival plak ve diştaşı
- Dişetinde şişlik, kızarıklık, stipling yapısında bozulma
- Dişeti marjinde bozulmalar
- Cep formasyonu
- Ataşman kaybı (horizontal ve vertikal)
- Kemik kaybı
- Furkasyon defektleri
- Dişlerde mobilite ve patolojik migrasyon
- Diş kayıpları görülebilir (5).

Periodontitis genellikle ağrısız bir hastalıktır. Bu nedenle hastalar, hastalığı fark etmeden uzun yıllar boyunca ağız içinde kalabilir. Hasta şikâyetleri genelde dişetlerinde kanama, kaşıntı, dişlerde sallanma ve açığa çıkan kök yüzeylerinde hassasiyet ve estetik şikâyetler şeklinde olmaktadır. Nadir olarakta lokalize veya çeneye yayılan ağrılar mevcut olabilmektedir (5, 67, 83). Akut ağrı sadece patolojik cebin çeşitli nedenlerde tıkanarak periodontal apse oluşturduğu durumlarda görülmektedir. Tüm bu klinik bulgulara ilave olarakta radyografide çeşitli derecelerde kemik kayıpları tespit edilebilmektedir (5, 67, 83).

MDP, periodontitisin temel etkenidir ve hastalık, öncesinde mutlaka bir gingivitis tablosuyla başlamıştır (84). Sonuçta her periodontitisin öncesinde gingivitisin varlığı zorunludur fakat, her gingivitis vakası uzun yıllar tedavi edilmemiş olsa bile periodontitis geçişiyle sonuçlanmayabilir (2). Periodontitis, yavaş seyirli bir hastalık olmasına rağmen plağa karşı konak cevabı çeşitli lokal, sistemik veya çevresel faktörler tarafından etkilenebilmekte ve yıkım hızı artabilmektedir. Lokal faktörler arasında uygunsuz restorasyonlar, dişeti altına uzanan çürükler, dişin anatomik yapısında farklılıklar (kök oluk ve konkavite), maloklüzyonlar, kök rezorpsiyonları ve kemik kaybı sebebiyle furkasyon bölgesinin açığa çıkması gibi plak birikimini kolaylaştıran faktörler yer almaktadır (5). Sistemik faktörler arasında ise, diyabet (79,

85), osteoporoz (86) gibi sistemik hastalıklar, hamilelik sırasındaki hormonal değişimler (87), Down sendromu (88) gibi genetik hastalıklar, AIDS (89, 90) gibi immün sistem hastalıkları ve lökosit disfonksiyonları gibi hematolojik bozukluklar (91, 92) sayılabilmektedir. Bununla birlikte, çevresel faktörler olarak da sigara kullanımı (93-95) ve stres (82, 96) kötü beslenme alışkanlığı (97) ve ileri yaşın (74) periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde risk faktörü olarak karşımıza çıktığı belirtilmektedir.

Periodontitisin başlıca özellikleri, klinik ataşman kaybı ile meydana gelen periodontal doku desteği kaybı, alveoler kemik kaybı, periodontal cep varlığı ve gingival kanamadır (98). Klinik olarak subgingival ve supragingival plak ve diş taşı varlığı, dişetinde şişlik, kızarıklık ve keskin olmayan yuvarlak hatlı dişeti konturları izlenir (99). Çeşitli derinliklerde gözlenebilen ceplere, hem yatay hem de dikey yönde kemik kayıpları eşlik eder. Furkasyon tutulumu, kemik kaybının ilerlediği alandaki dişlerde mobilite ve diş kaybı görülebilir (5, 83). Periodontitiste doku yıkımının esas sebebi plak bakterilerine karşı, konak savunma sisteminin verdiği immünoenflamatuvar yanıtıdır (100). Doku kaybı nötrofil, monosit, lenfosit, fibroblast ve diğer konak hücrelerinin aktivasyonu ile gelişen konak cevabıyla gerçekleşir (101).

2017 yılında EFP tarafından yeni sunulan sınıflamada, daha önceden ‘‘agresif’’ ve ‘‘kronik’’ olarak tanımlanmış periodontitis formları tek bir ‘‘periodontitis’’ başlığı altında toplanmıştır (98).

Klinik olarak bir hastanın ‘periodontitis vakası’ olabilmesi şunlara bağlıdır:

1. İnterdental klinik ataşman kaybı (KAK) ≥ 2 komşu olmayan dişte veya
2. Bukkal veya oral KAK ≥ 3 mm ile birlikte cep derinliği >3 mm; ≥ 2 dişte tespit edilmeli ve var olan KAK, periodontal olmayan; 1) travma kaynaklı gingival çekilme, 2) dişin servikal bölgesine uzanan diş çürükleri, 3) 2.moların distalinde görülen ve 3.moların malpozisyonu veya çekimine bağlı oluşan KAK varlığı, 4) marjinal periodonsiyumdan drene olan endodontik lezyon, ve 5) vertikal kök kırığı varlığı sebeplerinden kaynaklanmamalıdır.

Bunun yanısıra çok boyutlu bir periodontitis evreleme (staging) ve derecelendirme (grading) sistemi sunulmuştur.

Evreleme, hastalığın şiddetine ve hastalık yönetimindeki karmaşıklığa bağlıdır (Tablo 1).

Tablo 1

TABLO 1. ŞİDDET (İTERDENTAL KLİNİK ATAŞMAN KAYBI SEVİYESİNE GÖRE), KARMAŞIKLIK, KAPSAM VE DAĞILIMA GÖRE TANIMLANMIŞ EVRELEME SİSTEMİNE DAYANAN PERİODONTİTİS SINIFLAMASI.

Periodontitis evreleri (Stage)		STAGE I	STAGE II	STAGE III	STAGE IV
Şiddet	Yıkımın en fazla olduğu bölgedeki interdental klinik ataşman seviyesi.	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radyografik kemik kaybı.	Koronal üçlü (<%15)	Koronal üçlü (%15- %33)	Kök yüzeyi orta üçlüsünü geçiyor.	Kök yüzeyi orta üçlüsünü geçiyor.
	Diş kaybı	Periodontitis kaynaklı diş kaybı yok.		Periodontitis kaynaklı en fazla 4 diş kaybı.	Periodontitis kaynaklı en az 5 diş kaybı.
Tedavi zorluğu	Lokal	Sondlama cep derinliği en fazla 4mm. Horizontal kemik kayıpları.	Sondlama cep derinliği en fazla 5 mm Horizontal kemik kayıpları.	Stage III' ye ek olarak: • Sondlama cep derinliği 6mm üzeri • Vertikal kemik kayıpları 3mm ve üzeri. • Furkasyon Sınıf II / Sınıf III tutulumu. • Orta seviye kret defektleri.	Stage III'e ek olarak: Şu durumlardan dolayı kompleks tedaviye ihtiyaç duyulur ; • Çiğneme fonksiyon kaybı, • Sekonder oklüzal travma (Mobilite Sınıf II ve üzeri) • Şiddetli kret defektleri. • Oklüzyon bozukluğu, malpozisyon. • 20 den az diş.
Kapsam ve tutulum	Stage'e belirleyici olarak eklenir.	Her stage için tutulumu lokalize, generalize veya molar/keser olarak belirtiniz.			

Evre I periodontitis, başlangıç periodontitis; gingivitis ve periodontitis arasındaki sınır olarak belirtilmiştir ve ataşman kaybının ilk görüldüğü evredir. Kaybın en çok olduğu bölgede interdental KAK 1-2mm'dir. Koronal üçlüde %15'i geçmeyen radyografik kemik kaybı mevcuttur. Periodontitis sebebiyle kaybedilmiş diş yoktur. Maksimum sondlama cep derinliği 4 mm veya daha azdır. Çoğunlukla kemik kaybı horizontaldir. Evre I periodontitisli hastalarda kalıcı gingival inflamasyona ve biyofilm disbiyozisine yanıt olarak periodontitis gelişmiştir. Erken tanıya ilaveten, nispeten erken yaşlarda bir dereceye kadar ataşman kaybı görülmesi kişinin hastalık

başlangıcına karşı artmış duyarlılığa sahip olduğunun göstergesi olabilmektedir. Bunun yanında periodontitis teşhisinde altın standart olarak kabul edilen periodontal sondlama, erken klinik ataşman kaybını belirlemede yetersiz kalabilmektedir. Tükürük biobelirteçlerinin incelenmesinin ve/veya yeni görüntüleme tekniklerinin kullanılmasının evre I periodontitisin erken teşhisinde faydalı olabileceği vurgulanmıştır.

Evre II periodontitis, orta şiddette periodontitis, dikkatli bir klinik periodontal muayene ile belirlenen periodontitisin diş destek dokularında neden olduğu karakteristik hasarların görüldüğü yerleşmiş periodontiti temsil etmektedir. Kaybın en çok olduğu bölgede interdental KAK 3-4 mm'dir. Koronal üçlüde % 15-33 arasında radyografik kemik kaybı mevcuttur. Periodontitis sebebiyle kaybedilmiş diş yoktur. Maksimum sondlama cep derinliği 5 mm veya daha azdır. Çoğunlukla kemik kaybı horizontaldir. Bu evrede, tedavi pek çok vakaya göre basit olsa da, evre II hastanın standart tedaviye verdiği yanıt dikkatli değerlendirilmelidir. Hastalığın derecesi ve hastanın tedaviye verdiği yanıtta göre hastaya özgü daha kapsamlı tedavilere yönlendirilebilir.

Evre III periodontitis, şiddetli periodontitis, ataşmanda anlamlı bir hasar söz konusudur ve tedavi edilmezse diş kaybı görülebilmektedir. Bu evre, kökün orta üçlüsüne ilerlemiş derin periodontal lezyonlarla karakterizedir ve derin kemikiçi defektlerin varlığı sebebiyle tedavisi karmaşıktır. Kaybın en çok olduğu bölgede interdental KAK 5mm veya daha fazladır. Kökün orta veya apikal üçlüsüne uzanan radyografik kemik kaybı mevcuttur. Periodontitis sebebiyle en çok 4 diş kaybedilmiştir. Sondlama cep derinliği 6 mm veya daha fazladır. 3 mm veya daha fazla vertikal kemik kaybı görülür. II. veya III. derece furkasyon tutulumu ve orta derece kret defekti mevcuttur.

Evre IV periodontitis, periodontal destek dokuda ciddi hasar oluşmuştur. Anlamlı derecede diş kaybı ve sonucunda çiğneme fonksiyonunun kayıp ortaya çıkar. Kaybın en çok olduğu bölgede interdental KAK 5 mm veya daha fazladır. Kökün orta veya apikal üçlüsüne uzanan radyografik kemik kaybı mevcuttur. Periodontitis sebebiyle en az 5 diş kaybedilmiştir. Periodontitis kontrol altına alınmaz ve rehabilite edilmez ise dentisyonun kaybedilme riski vardır. Bu evre kökün apikal üçlüsüne

ilerlemiş derin periodontal lezyonlarla veya çoklu diş kayıplarıyla karakterizedir. Sekonder okluzal travmaya bağlı diş hipermobilitesi ve diş kaybına bağlı çiğneme fonksiyonu bozuklukları ile sıklıkla komplike bir durumdur. Tedavi yaklaşımı çiğneme fonksiyonunun stabilizasyonu/restorasyonu şeklinde olmalıdır.

Tanıdaki evrelemeden bağımsız olarak, periodontitis ilerlemesi bireylerde farklılık gösterebilir ve bazı hastalarda tedaviye yanıt daha az olabilir. Genel sağlık veya sistemik hastalık varlığı bu durumu etkileyebilir veya etkilemeyebilir. Son yıllarda doğrulanmış risk değerlendirme araçları ve bireysel risk faktörlerinin varlığı, dişlerin kaybı ile ilişkilendirilerek periodontitis ilerleyişi ve diş kaybetme riskini tahmin edebilmenin mümkün olduğu gösterilmiştir (102).

Geçmişte, periodontitis ilerleme derecesi özel periodontitis formları tanımlanarak sınıflandırma sistemine dahil edilmiş ve bu tanımlamada yüksek ilerleme hızı veya erken yaşlarda görülen şiddetli doku yıkımı referans alınmıştır (103). Son çalışmada bu tür periodontitis formlarının kendine özgü bir patofizyolojiye sahip olduğunu gösteren bir kanıt bulunmadığı, daha ziyade çok faktörlü bir hastalık modelindeki risk faktörlerinin karmaşık etkileşimleri bu hastalarda periodontitis fenotipini açıklayabileceği belirtilmiştir. Bu bağlamda periodontitisin biyolojik derecesinin (risk veya gerçek progresyon) belirlenmesi için bir çerçeve sağlamak yararlı görünmektedir (102).

Periodontitis için belirlenmiş risk faktörlerinden olan sigara ve kontrol altında olmayan diyabetin, hastalığın ilerleme oranını etkilemektedir ve hastalığın bir sonraki evreye geçişine sebep olabilir. Obezite, spesifik genetik faktörler, fiziksel aktivite veya beslenme gibi yeni ortaya çıkan risk faktörleri değerlendirmeye katkıda bulunabilir. Bu nedenle vaka tanımlanırken esnek bir yaklaşım gereklidir. Hastalık şiddetini değerlendirirken hasta yaşı da bireysel duyarlılığın seviyesini gösteren indirek bir parametredir. İdeal olmasa da - erken yaşta ileri seviye hastalık ve geç yaşta minimal hastalık – konsepti klinik uygulamada ve risk değerlendirme araçlarında yüksek duyarlılığa sahip veya nispeten dirençli bireyleri tanımlamak için kullanılmıştır. Hasta yaşının kök çevresindeki alveolar kemik kaybına oranlandığı bir model de mevcuttur. Bu model uzun dönemde hastalık progresyonunun değerlendirmesinde intraoral radyografilerde kullanılarak uygulanmış (104, 105) ve daha sonra periodontal risk

değerlendirme sistemin konseptine dahil edilmiştir (106, 107). Daha yakın bir zamanda bir bireyin KAK şiddetiyle yaşı da karşılaştırılmış (108). Geniş bir popülasyondan elde edilen bu bilgiler KAK için bir yaş standardı belirlemek için değerlendirilebilir ve yaş grubu ortalamasına göre daha fazla doku kaybı gösteren bireylerin hastalık ilerleyişi açısından artmış risk altında olduğu belirtilebilmektedir.

Ayrıca biyomarkerların periodontitisin erken saptanmasında katkıda bulunabileceği ve periodontitisin derecelendirilmesinde önemli yardım sağlayabileceği belirtilmiş, önerilen çerçevede periodontitisin vaka tanımlama sisteminde onaylanmış biyomarkerların kullanılmasına izin verilmiştir.

Derecelendirme sistemi, yeni bildirilen risk faktörlerine, biomarkere vb. kanıtlara adapte edilebilen esnek bir sistemdir. Bu sistem, hastalığın ilerleme hızının dikkate alınmasını sağlar. Tablo 2' de periodontitisin ilerlemesinde doğrudan ve dolaylı kanıtların primer kriter olarak varlığına dayanan periodontitis derecelendirme sistemi gösterilmiştir. Doğrudan kanıt, hastanın eski radyografilerinin gözlemlerine dayanmaktadır. Dolaylı kanıtlar, dentisyondaki en kötü etkilenmiş dişin kemik kaybının yaşa göre değerlendirilmesine dayanır. Bu değer, ölçülen kemik kaybının kök uzunluğuna yüzdesinin yaşa bölünmesiyle elde edilir. Periodontitis derecesi risk faktörlerinin ortaya çıkmasına göre modifiye edilebilir.

TABLO 2. PERIODONTİTİS DERECELENDİRMESİ

Periodontitis dereceleri (Grade)			Grade A: Yavaş ilerleme hızı	Grade B: Orta ilerleme hızı	Grade C: Hızlı ilerleme hızı.
Primer kriterler.	Hastalık ilerleme hızını gösteren <u>direkt</u> kanıtlar.	Takip edilen veriler. (radyografi kemik kaybı veya CAL)	Son 5 yıldır kemik kaybının olmadığına kanıtı.	Son 5 yılda <2mm kemik kaybı	Son 5 yılda >2mm kemik kaybı
	Hastalık ilerleme hızını gösteren <u>indirekt</u> kanıtlar.	%kemik kaybı yaş	<0.25	0.25 - 1.0	>1.0
	Vaka tipi	Aşırı biofilm birikimi ile birlikte görülen düşük miktarda yıkılım	Yıkım miktarı biofilm birikimi ile uyumluluk gösterir	Yıkım, biofilm miktarından orantısız şekilde fazladır.	Belirli klinik tablolar vardır: Molar/keser tutulumu, erken yaşta hastalık başlaması, tedaviye beklenenden kötü yanıt görülmesi.
Grade değişkenleri	Risk faktörleri	Sigara	Sigara içmeyen	Sigara içen : Günde <10 sigara	Sigara: Günde ≥ 10 sigara
		Diabet	Normal glisemik durum, diabet tanısı yok.	HbA1c <7.0% Diabet hastası.	HbA1c ≥7.0% Diabet hastası.

Periodontal derecelendirme A,B ve C olarak üç ayrı seviyeye ayrılmıştır. Klinisyenler, orta dereceli bir ilerleme oranını (derece B) varsayarak derecelendirmeye yaklaşabilir, ardından prognozu ve buna göre de dereceyi değiştirebilecek doğrudan ve dolaylı olan kanıt veya risk faktörlerini değerlendirebilirler (102).

2.3.Periodontal Hastalık Etiyolojisi

Periodontal hastalıklar, patojen bakterilerin diş ve etrafındaki dokulara adezyonu ve kolonizasyonu yoluyla oluşan enflamatuvar hastalıklardır (109). Patojenik yapıda bir biyofilm mevcudiyedi periodontitisin oluşması için şarttır; fakat tek başına hastalık yapmak için yeterli olmamaktadır. Periodontal hastalık, biyofilm ve enflamasyona karşı konak savunma sistemi arasındaki kompleks bir çok etkileşimden kaynaklanmakta ve bu etkileşimlerin periodontal doku yıkımının % 80'ini oluşturduğu düşünülmektedir (110).

2.3.1. Mikrobiyal dental plağın rolü

MDP çeşitli bakterilerin ekstraselüler yapışkan madde içine girerek organize olması sonucu oluşan bir biyofilmdir. Birçok biyofilmin belli başlı ortak yapısal

özellikleri olmasıyla birlikte biyofilmler bireyden bireye ve biyofilmin türleri arasında bile farklılık gösteren heterojen yapılardır. Genel olarak bir biyofilm topluluğu; bakteri mikrokolonileri, ekstraselüler matris, su kanalcıkları ve basit bir iletişim ağından oluşmaktadır (111). Su kanalcıkları aracılığıyla atık ürünler uzaklaştırılırken, besinlerin biyofilmin derin katmanlarına ulaşması sağlanır (112).

MDP, mineralize olmayan, diş yüzeyi, sabit restorasyonlar ve hareketli protezler gibi ağız içindeki sert yüzeylere yapışan, filamenter formların baskın olduğu yapısal bir organizasyon gösteren, tükürük glikoproteinlerinden ve ekstraselüler mikrobiyal ürünlerden türetilen organik bir matrisle kaplı bir kompleks yapı olarak tanımlanmıştır (113). MDP'nin yüzeylerini kaplayan ekstraselüler matris (ESM), dental plağın hava-su spreyiyle uzaklaştırılmasına imkan sağlamayan oldukça dayanıklı bir yapıdır (114). Diş taşı ise dental plağın mineralize olup sertleşmiş şeklidir ve genellikle üzeri mineralize olmamış dental plak ile kaplıdır (112).

Dental plak, diş yüzeyinde dişeti sınırına olan konumuna göre supragingival ve subgingival olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (112).

1. Supragingival plak, dişeti sınırında veya üst tarafında bulunur. Dişeti marjinine doğrudan temas ediyorsa marjinal plak olarak adlandırılmaktadır.
2. Subgingival plak ise dişeti sınırının alt tarafında, diş ile dişeti cep epiteli arasında bulunmaktadır.

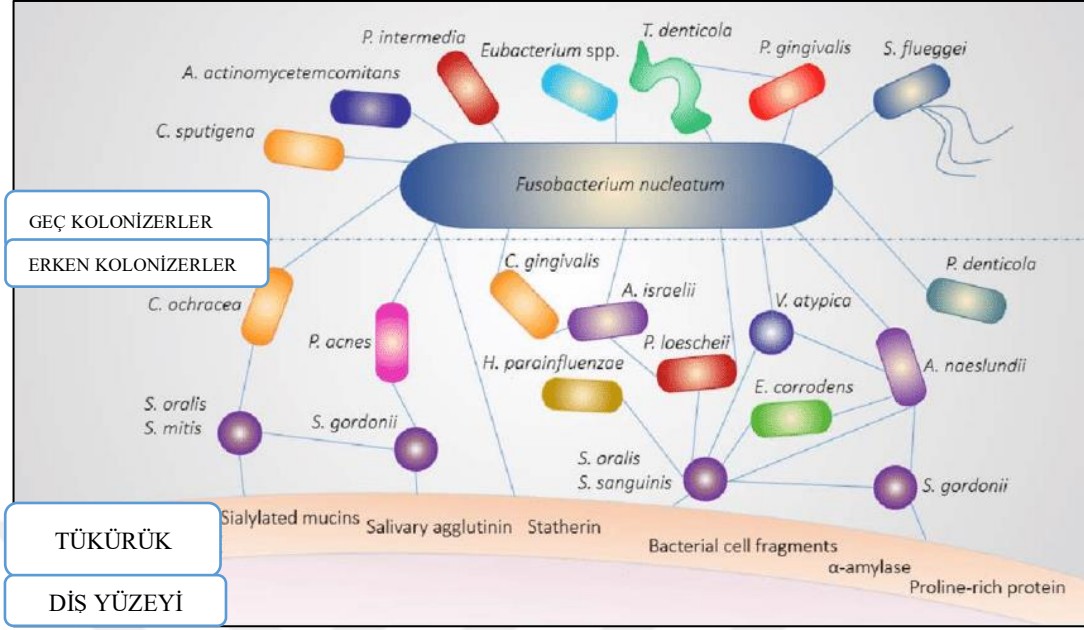
Subgingival plak içeriği, kan ürünlerinin lokal olarak varlığı ve anaerobik ortamın düşük redüksiyon-oksidasyon (redoks) potansiyeli sebebiyle supragingival plak içeriğinden farklı olmaktadır. Subgingival plağın apikal kısmında spiroketler, koklar ve çubuklar hakim hücre grubuyken, koronal kısımda daha çok filamentler grup yer almaktadır ve plak içeriği cep derinliğine bağlı olarak değişmektedir. Plak içeriğinin alana özgü olması periodontal hastalıklarla oldukça ilişkilidir ki, marjinal plak varlığı gingivitis oluşumu için en önemli faktörken; supragingival ve dişle ilişkili subgingival plak varlığı diştaşı ve kök çürüğü oluşumunda, yumuşak dokuya yakın subgingival plak varlığı ise doku yukımıyla karakterize periodontitis oluşumunda etkin rol oynamaktadır (112).

Yapılan çalışmalarda oral hijyen prosedürlerinin uygulanmasını takiben kısa süre içerisinde bakterilerin diş yüzeylerinde kolonize olabildiği gösterilmiştir. Günler

içerisinde ise gingivitisin mikroskobik ve klinik belirtileri ortaya çıkmaktadır. Fakat oral hijyen prosedürlerinin yeterli şekilde sağlanması sonucunda enflamasyon geriler ve sağlıklı duruma dönüş sağlanmaktadır. Bakteri plağı gingivitise neden olmakla birlikte, periodontitis gelişimi konak yanıtına bağlı değişmektedir. Konak yanıtını ise hastanın sistemik durumları, hormonlar, genetik faktörler, kullandığı ilaçlar ve beslenme gibi birçok faktörden etkilenmektedir (74).

2.3.2. Periodontal hastalığın mikrobiyolojisi

Oral kavitede 700'den fazla bakteri türü tespit edilmiştir (115). Bunların büyük kısmı mukoza ve diş yüzeylerinde kolonize olup biyofilm denilen içinde çok çeşitli türleri barındıran üç boyutlu bir kompleks yapı içinde yer almaktadır (116, 117). Bakterilerin % 99'undan fazlasının canlılığını biyofilm içinde sürdürdüğü görüşü kabul edilmektedir (118). Serbest şekilde canlılığını sürdürebilen bakterilere ise planktonik bakteriler adı verilmektedir (112). Biyofilm içinde bulunan bakteriler arasında fiziksel temas, metabolik değişim, genetik bilgi alışverişi veya çoğunluğu algılama (quorum sensing) gibi yollarla çeşitli ilişkiler kurulabilmektedir (119). Bu durum, duyarlı bakterilerin bir biyofilm içinde bulunduğu takdirde çeşitli inhibitörlerden farklı metabolik stratejiler oluşturarak kaçabilmesini sağlamaktadır (120). Biyofilm içinde yaşayan bakterilerin, planktonik bakterilere göre antimikrobiyal ajanlara 1000 kat daha dirençli olduğu ortaya konulmuştur (112).



ŞEKİL 1. ORAL BAKTERİ KOLONİZASYONU

Bir biyofilm olan MDP oluşumu, tükürük ve DOS kaynaklı glikoproteinlerin, fosfoproteinlerin, prolin ve histidinden zengin proteinlerin ve amilaz gibi enzimlerin temiz diş yüzeylerine yapışarak pelikül olarak adlandırılan yapıyı oluşturmasıyla başlamaktadır. Pelikül, bakterilerin dişin dış yüzeylerine tutunmasını sağlamaktadır. Pelikül kaplı diş yüzeyine ilk olarak adhezinleri yoluyla actinomiçes ve streptokok türleri gibi gram pozitif fakültatif bakteriler tutunur ve bu bakteri türlerine erken kolonizerler adı verilmektedir (121). Daha sonra *Fusobacterium nucleatum* (*F.nucleatum*), *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *T. denticola* ve *A.a.* gibi yüksek patojenik özellikleri bulunan bakteriler erken kolonizerlere tutunarak ikincil kolonizasyonu oluşturmaktadırlar (122). *F.nucleatum* erken kolonize olan bakterilerle geç kolonize olanlar arasında bir köprü görevi oluşturmaktadır (119). Bakterilerin bu şekilde birbirine tutunmasına “koagregasyon” adı verilmektedir (123). Dental plak oluşumunun başlangıcında gram-pozitif aerob bakteriler baskın tür oluştururken ilerleyen dönemde gram-negatif anaeroblar baskın tür haline gelmektedir (124).

Periodontal olarak sağlıklı bölgelerde ağırlıklı olarak fakültatif anaerob bakteriler; *Actinomyces*'ler, *A. viscosus* ve *Actinomyces naeslundii* (*A.naeslundii*) ve *Streptococcus*'lar *Streptococcus sanguis* (*S.sanguis*) ve *Streptococcus mitis* (*S.mitis*)

gözlenmektedir. Az sayıda gram negatif türler, hareketli bakteriler ve spiroketler de yer aldığı gösterilmiştir (125, 126).

Yalnız dental plağa bağlı gelişen gingivitiste %56 gram pozitif ve %44 gram negatif türler bulunmakta ve bunların %59 fakültatif, %41'i anaerobiktir. Gram pozitif türler içinde *S. mitis*, *S. sangius*, *S. oralis*, *S. intermedius*, *A. naeslundii*, *A. viscosus* ve *Peptostreptococcus micros* (*P. micros*) yüksek yoğunlukta, gram negatif türler içerisinde ise; *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *Veillonella parvula* (*V. parvula*), *Capnocytophaga*, *Haemophilus* ve *Campylobacter* türleri yüksek yoğunlukta bulunmaktadır (127, 128).

Periodontal hastalık yapıcı bakterilerin birçoğu gram-negatif anaerobik türler olmaktadır. Periodontal doku hasarından esas olarak sorumlu olan bakteriler *Pg*, *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *T. forsythensis*, *A.a.* ve *T. denticola* olduğu gösterilmiştir (129).

Periodontitiste yoğun olarak *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythensis*, *E. corrodens*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, *A. a.*, *Treponema* ve *Eubacterium* türleri bulunabilmektedir. Aktif periodontal hasarın görüldüğü bölgelerde *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus* *T. forsythensis* ve *F. nucleatum* türleri daha fazla gözlenmektedir (126, 130).

Periodontitis patogenezinde çok çeşitli mikroorganizmaların birlikte rolü olduğu gösterilmiştir. Bu çeşitlilik sebebiyle periodontitisin teşhisi ve tedavisinde ciddi zorluklarla karşılaşmaktadır. Tanı için değerlendirilen yaklaşık 40 mikroorganizmanın hangisinin patojenitesinin diğerinden daha yüksek olduğu kesin olarak kanıtlanamamıştır. Tedavide ise olası periodontopatojenlerin ortadan kaldırılması veya azaltılması için çeşitli uygulamalar denenmiştir. Fakat hastalığa sebep olan birkaç farklı tür bulunacağından ve bunların aynı antimikrobiyal tedaviye eşit derecede duyarlı olamayabileceğinden uygun antimikrobiyal tedavinin de belirlenmesinde zorluklar gözlenir (112).

2.3.3. Bakteri- konak etkileşiminde bakterilerin rolü

Periodontal hastalık oluşum sürecinde enflamasyon kaynaklı doku yıkımı, çeşitli sinyal molekülleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bunlar subgingival mikrobiyaya ve konak immün yanıtı kaynaklı moleküller olarak ikiye ayrılmaktadır. Bakteri kaynaklı moleküller, enflamasyonun başlaması ve devam etmesinde önemli roldeyken, esas doku yıkımından sorumlu olanın konak yanıtı olduğu gösterilmiştir (131).

Mikrobiyal virulans faktörleri

Gram negatif kırmızı kompleks bakterileri, konakçı defansını nötralize etmeyi amaçlayan ve periodontal dokuları yıkıma uğratan çok sayıda güçlü virulans faktörlerine sahiptir(72). Konağın bu bakteri ve ürünlerine verdiği yanıt sonucu periodontal hastalık olarak bilinen lokal doku yıkımı gerçekleşmektedir (132).

Hajishengallis ve ark.'nın yaptığı bir *in vivo* çalışmada, patojenlerden arındırılmış farelere *P.gingivalis* oral yolla aşılanmış ve bu patojenin toplam mikrobiyotanın % 0,1'den küçük bir bileşeni olmasına rağmen kommensal bakterilerin sayı ve organizasyonunu değiştirerek periodontal kemik kaybına neden olduğu ortaya konmuştur (133). Bu şekilde konak bağışıklık sistemini baskılayıp dental plağın mikrobiyal içeriğini değiştirerek periodontal kemik kaybı oluşturan *P. gingivalis*, anahtar patojen olarak kabul edilmektedir (134). Bu patojenin konak savunmasını engelleyebilecek mekanizmaları şu şekilde belirtilebilir (135):

- Toll-benzeri reseptör (TLR) cevabını etkileme
- Interlökin 8 (IL-8) yıkımı
- Kompleman sisteminin bozulması

Lipopolisakkaritler

Lipopolisakkaritler (LPS'ler) gram negatif bakterilerin dış membranında bulunan, bir lipit (lipit A) ve bir polisakkarit bileşiminden oluşan büyük moleküllerdir. LPS'ler, bakterilerin yapısal bütünlüğünün korunmasında önemli bir göreve sahip olup aynı zamanda memelilerde kuvvetli immün yanıt oluşturmaktadırlar. Memelilerin immün sistemleri, TLR'ler aracılığıyla LPS'yi tanımaktadırlar (136).

TLR-4, gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan LPS'leri tanır. CD14, LPS'nin bakteri membranından ayrılarak MID-2 ye bağlanmasını sağlar. MID2, TLR4 ile kompleks oluşmasını sağlayan proteindir (137). TLR, sinyal mekanizmasının aktivasyonu proenflamatuvar sitokinler ve nitrik oksitin üretimini uyarır ve böylece doğal immün sistemin elemanları olan makrofajları aktive ederler. İlerleyen dönemde TLR'nin uyarılmasıyla dendritik hücre aktivasyonu gerçekleşmekte ve bir dizi olay sonucu edinilmiş immün sistemin anahtar parçası olan T hücreleri aktive olmaktadır (138, 139). LPS'ler periodontal dokulardaki enflamatuvar yanıtın başlatılması ve devam ettirilmesinde kilit rol oynayan bileşenlerdir(140).

Gram pozitif bakterilerin hücre membranlarında ise lipoteikoik asit bulunmaktadır. Lipoteikok asit de CD-14 aracılığıyla TLR-2 tarafından tanınır ancak buna karşı oluşan immün yanıt LPS'lere oranla oldukça azdır (141). Periodontal hastalıklarda önemli yere sahip olan *P.gingivalis*'in ise, hem TLR-2 hem de TLR-4 tarafından tanınan atipik bir LPS yapısı bulunmaktadır (142).

Başta *P.gingivalis* olmak üzere bazı bakteri türlerinin yüzeylelerinde bulunan 'fimbria' ların da insan dişeti epitel hücrelerindeki TLR-2 tarafından tanındığı ve IL-8 üretimini uyararak periodontal hastalık seyrinde rol oynadığı gösterilmiştir (143).

Bakteriyel enzimler ve zararlı bileşikler

Periodontal hastalık yapıcı bakterilerin virulans faktörleri arasında, doku hasarına doğrudan etki eden çeşitli metabolik ürünler salgılamaları da yer almaktadır. Bunların içinde amonyak (NH₃) ve hidrojen sülfür (H₂S) gibi zararlı bileşikler (144) ve bütirik asit ve propionik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri de bulunur. Kısa zincirli yağ asitleri gram-negatif anaerob bakterilerin sık görülen metabolitleridir (145). Bu bileşikler DOS içeriğinde periodontal hastalığın şiddetiyle orantılı miktarlarda tespit edilebilirler (146). Konak hücreleri üzerinde yıkıcı etkilere sahip olan bütirik asit, T ve B hücrelerinde ve gingival fibroblastlarda apoptozisi indükler (147). Aynı zamanda bütirik ve propionik asitler insan endotel hücrelerinin ve gingival fibroblastların büyüme ve proliferasyonunu engellemektedirler (148). Yapılan çalışmalarda kısa zincirli yağ asitlerinin lenfosit proliferasyonunu, sitokin üretimini (149) ve PMNL'lerin kemotaksisini engellediği ortaya konmuştur (150) .

Bir başka çalışmada ise kısa zincirli yağ asitlerinin sağlıklı bireylerin dişetlerine uygulandığında DOS akışını, PMN göçünü, subgingival sıcaklık derecesini ve DOS'taki IL-8 üretimini arttırarak enflamatuvar cevabı uyardığı bildirilmiştir (151).

Plak bakterileri aynı zamanda kollojen, elastin ve fibronektin gibi periodonsiyumun yapısal proteinlerini parçalayan proteazlar ürettiği gösterilmiştir (152). Bakteri proteazları, proteinleri parçalar ve böylece bakterilerin beslenmesi için gereken peptitleri, aminoasitleri ve demiri oluşturmuş olurlar. Bakteriyel proteazlar aynı zamanda konak yanıtını engelleyip doku bütünlüğünü bozarak dokulara mikrobiyal invazyonu kolaylaştırmaktadırlar (153).

P.gingivalis gingipain olarak bilinen periodontal pataogenezde rol oynayan iki tip sistein proteaz üretmektedir (154). Gingipainler immün–enflamatuvar cevabı bozup immün sistemi modüle ederek doku yıkımını arttırmaktadırlar (155).

Bazı bakterilerin konak savunma sistemini etkisiz hale getirebilen virülans faktörleri de bulunmaktadır. Bunlar arasında belli türlerin konağın fagositik hücrelerinin aktivitelerini engellemek için ürettikleri immünglobulinleri parçalayan proteazlar, *A.a.*'ların ürettiği konak savunma hücrelerini öldüren lökotoksinler gösterilebilmektedir (156).

Mikrobiyal invazyon

Bakterilerin periodontal dokulara invazyonu uzun süre tartışılrsa da çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Mikroskopik incelemelerde sağlıklı bireylerin bukkal epitel hücrelerinin periodontal hastalık yapıcı bakterileri içeren bir hücre içi mikrobiyotaya sahip olduğu gösterilmiştir (157). Periodontitisli hastalarda yapılan histolojik incelemelerde de cep epitelinde ve hücrelerarası boşluklara çeşitli bakterilerin penetrasyonu gözlenmiştir (158). *P.gingivalis* ve *A.a.*'nın bağ dokusuna kadar invaze olduğu (158, 159) ve hatta *A.a.* 'nın epitel hücreleri içine yerleşerek burada kalabildiği (160) belirtilmiştir. *F. Nucleatum*'un da konak epitel hücrelerine invaze olarak invazyon yeteneği olmayan bakterilerin dokulara girişini sağladığı rapor edilmiştir (161).

Bakterilerin bu şekilde dokuya invazyon özellikleri sebebiyle yalnızca mekanik debritlemanın yeterli olamayacağı, ek olarak ilaç veya lazer uygulamaları

gibi terapötik yöntemlerin kullanılmasının faydalı olabileceği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (162, 163).

2.3.4. Bakteri- konak etkileşiminde konak cevabının rolü

Periodontal hastalıkların başlaması ve ilerlemesiyle birlikte periodontal doku hasarının gerçekleşmesinde en önemli etkenin dental plak içeriğindeki bakteriyel yüke karşı oluşan konak yanıtının neden olduğu belirtilmiştir (5). Belirli mikroorganizmaların periodontal hastalığın ilerleyici tiplerinde etkin olduğu kanıtlanmışken, bunun yanı sıra hastalığın ilerlemediği kişilerde de bu mikroorganizmaların saptanabilmesi, periodontitis gelişiminin bakterilerin varlığından ziyade, konağın bağışıklık ve enflamatuvar yanıt sürecinin bir sonucu olduğunu göstermektedir (164).

Periodontal hastalığın başlamasında, belirli periodontopatojen mikroorganizmaların varlığı gereklidir fakat doku hasarının miktarı ve şiddeti, büyük oranda mikrobiyal yükü konak arasındaki etkileşimlere bağlıdır. Bu etkileşimler, dental biyofilmin mikrobiyal içeriği ve konağın immün cevabına göre bireyden bireye değişkenlik gösterebilir ve bu da periodontal doku yıkımının şiddetinin bireyler arasında gösterdiği farklılığı açıklayabilmektedir (5).

İmmünoenflamatuvar yanıt

Konak, dişeti oluşuna yerleşen biyofilmlerden gelen bakteriyel atağı kontrol altına alabilmek için kronik immünoenflamatuvar bir yanıt geliştirmektedir (165). Bakteriyel ataklara karşı periodontal dokuların oluşturduğu ilk enflamatuvar yanıt, patolojiden ziyade, bir fizyolojik savunma mekanizması olarak düşünülmektedir (166). Oluşan bu konak yanıtı, periodonsiyumu bir taraftan bakteri ataklarına karşı koruyup patojenlerin derin dokulara yayılmasını engellerken, bir taraftan da çevresindeki hücrelere ve ekstraselüler matrikse zarar vererek dişeti, periodontal ligament, sement ve alveol kemiğinde yıkıma sebep olmaktadır(81).

Periodontal hastalıkta, mikroskobik olarak birleşim epitelinin altındaki bağ dokuda izlenen akut enflamatuvar olaylar zinciri şu şekilde sıralanabilir:

- Kan damarlarında vazodilatasyon meydana gelir.

- Takip eden bir hafta içerisinde veya plak birikiminden sonra en erken 2 gün içerisinde nötrofiller kan damarlarının duvarlarına yapışır (marjinyasyon).
- Nötrofiller başta olmak üzere lökositler damar duvarından migrasyon yaparak damarı terk ederler (diapedez, emigrasyon).
- Damar dışına çıkan lökositlerin bağ dokusunda, birleşim epitelinde ve dişeti oluştuktaki miktarlarında artış gözlenir. Bununla birlikte dişeti oluştuktada eksüdasyon varlığı ve ekstravasküler proteinler ortaya çıkar (5).

Bakteriyel biyofilme karşı oluşan immün yanıt, doğal immün sistemin veya adaptif immün sistemin bir parçası olarak kabul edilen hücresel, moleküler ve organ düzeylerindeki etkileşimlerden meydana gelmektedir. İmmün yanıtın komplike biyolojik ağlar içerdığı, bu ağlarda patojen tanıma, doğal immünite ve adaptif immünitenin birbirleriyle ilişki içinde olduğu ve karşılıklı olarak birbirlerine bağımlı olduğu düşünülmektedir (167). İnsan vücudu eğer enfeksiyonu durdurmak için doğal ve adaptif immün cevabı uygun biçimde oluşturamazsa hemostaz sağlanamamakta ve enflamasyon kronikleşmektedir (168).

Doğal immünite

Doğal immünite, enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattı olan, patojenlerin konak doku ve hücrelerinin içine girişini önlemeye yönelik çeşitli mekanik, kimyasal ve mikrobiyolojik bariyerler içermektedir. Tükürük, DOS ve oral mukozanın epitelyal keratinositleri, oral kavitenin altta yatan dokularını ve özellikle de periodonsiyumu koruyan bariyerler olarak sayılabilirler. Doğal immün yanıt, sınırlı özgünlüğe sahip olan kalıtsal faktörler tarafından belirlenmektedir. Bir patojene önceden maruz kalmanın sonucu olarak değişmez veya gelişmemektedirler (5).

Bakteriyel ürünler dokulara geçtiğinde, doğal immün yanıtın hücresel ve moleküler elemanları aktifleşmektedir. Patojenin tanınması, efektör hücre olan nötrofillerin ve kompleman sistem moleküllerinin toplanması doğal immün yanıt etkinliğinin temelini oluşturmaktadır. Doğal immün yanıt çok çeşitli sitokinler, kemokinler ve hücre yüzey reseptörleri aracılığıyla düzenlenmekte ve doğal immünitenin uyarılması sonucu enflamasyon gelişimine sebep olmaktadır (5).

Doğal immün sistem, hemen harekete geçer (birkaç dakika içinde) ve enfeksiyonun ilk başlangıcında (ilk saatleri veya günlerinde) gerekli olan savunmadan

sorumlu olmaktadır. Erken dönemde gerçekleşen bu immün yanıtının oluşmasından sorumlu hücreler şu şekilde sayılabilir (5):

- Makrofajlar ve polimorfonükleer hücreler: Fagositik hücreler olarak temel görevleri mikroorganizmaları yutup yok etmektir.

- Dendritik hücreler: Antijen sunan hücrelerdir ve kazanılmış bağışıklığı aktive ederek doğal ve kazanılmış bağışıklık arasında köprü oluştururlar.

- Doğal katil hücreler: Farklılaşmış (örneğin tümör hücreleri) veya virüs bulaşmış konak hücrelerini tanıyan ve öldüren doğal sitotoksik lenfositlerdir.

Doğal immünite daha çok enfeksiyonun akut döneminde etkiliyken ilerleyen dönemlerinde kazanılmış immünite daha etkin rol oynamaktadır. Bununla birlikte doğal immünite, kazanılmış immünitenin aktifleşerek daha etkin bir şekilde fonksiyon göstermesini sağlamaktadır. Adaptif ve doğal immün yanıtlar, enfeksiyonlara karşı konak savunma sisteminin birlikte işlev gören parçalarıdır. Yani adaptif immünite etkinleştikten sonra doğal immünitenin işlevsiz hale gelmesi söz konusu olmamaktadır (169).

Adaptif immünite

Doku yaralanması ve enflamasyon durumunda, dokularda spesifik olmayan doğal immün cevabın yanı sıra daha spesifik olan adaptif immün cevap da meydana gelmektedir (168). Adaptif immün sistem, belirli mikroorganizma ve toksinlere özgü antikorları ve lenfositleri sunan sistemdir (170). Adaptif immün sistem hücreleri patojenleri tanımakta ve ilerde patojene yeniden maruz kalma durumunda daha kuvvetli bir immün yanıtın meydana gelmesini sağlamaktadırlar. Adaptif immün sistemin başlıca görevleri; antijenleri tanımak, spesifik patojenlere karşı bir enflamatuvar yanıt oluşturmak ve enfeksiyona yeniden maruz kalınması durumunda patojenin antijenik yapısını hatırlamak olarak sayılabilir (168).

Bu sistemde görevli esas hücreler, antijene özgü T ve B lenfositlerdir. Antijen sunan hücreler (ASH) ile T ve B lenfositlerin etkileşimleri sonucunda gerçekleşen adaptif immün yanıt, daha yavaş seyirlidir (5). T lenfositler farklılaşarak antijen sunan, yardımcı ve sitotoksik T lenfositlerine dönüşmektedirler. B lenfositler ise hücre dışı mikroorganizmaları öldürebilmek için immünglobulin salgılamaktadırlar (170).

Gingivitis ve stabil periodontal lezyonlarda, periodontal doku içindeki lökositlerin büyük kısmını T hücreleri oluşturmakta ve bu hücreler biyofilmin mikrobiyal atağına karşı doku hemostazını korumaktadırlar (171). Aktif periodontitiste B hücreleri ve plazma hücreleri baskın hale gelir ve hastalığın ilerlemesi ve cep oluşumundan sorumlu tutulabilirler (169).

Kompleman sistemi

Kompleman sistemi, vücudun esas savunma sistemlerinden biri olup, enflamasyon gelişiminde önemli role sahiptir. Kompleman sistem, 16 serum proteininden meydana gelmektedir (172). Kompleman proteinlerinin büyük kısmı proteolitik enzimlerdir ve bunlar birbiri ardına etkin hale gelerek ‘enzimatik şelale’ olarak tanımlanan bir mekanizmayla kompleman sistemini aktif hale getirmektedir (169).

Kompleman sisteminin aktivasyonunda, sistemin en kritik proteolitik aktivasyon basamağı olan C3’ün aktivasyonunda birleşen 3 farklı yol bulunmaktadır. Bunlar; klasik, alternatif ve lektin yoludur (173). Klasik yol, hümmoral edinsel immüitenin bir parçası olarak kabul edilen antikorların mikroorganizmalara veya başka antijenlere bağlanmalarıyla uyarılır. Alternatif yol, doğal immüitenin bir parçasıdır ve patojen yüzeyinde komplemanın aktivasyonu için antikordan bağımsız bir mekanizma seyrederek. Lektin yolu ise mikroorganizmaların yüzeylerinde yer alan glikoproteinlerin, mannoz bağlayıcı lektin olarak adlandırılan bir plazma proteinine bağlanmasıyla aktive olmaktadır. C3’ün ana proteolitik parçası olan C3b’ye ayrışması kompleman sisteminde esas olaydır (172). C3b mikroorganizma yüzeyini sararak fagositik hücrelerin yüzeyinde bulunan C3b reseptörleriyle tanınmasını ve böylece bu hücreler tarafından fagosit edilmelerini sağlar. Mikroorganizmaların, fagositik hücre yüzeyindeki reseptörler aracılığıyla tanınan moleküllerle sarılmasına ‘opsonizasyon’ adı verilir (169).

Kompleman sisteminin anafloksin olan C3a ve C5a proteolitik ara ürünleri, lökositlerin ve mast hücrelerinin toplanmasını sağlayarak vasküler değişiklikleri dolaylı yoldan uyarırlar (174). Kompleman sistemi, T ve B hücrelerini aktive ederek doğrudan veya antijen sunan hücreleri etkileyerek doğal ve adaptif immüite arasında köprü kurmada önemli göreve sahiptir (94).

Kompleman sisteminin üç aktivasyon yolu farklı başlangıç şekilleri gösterse de son evrede C3'ün C3b'ye dönüşümü ortaktır. Bu dönüşüm terminal litik membran saldırı kompleksi (MAC) olarak adlandırılan C5-C9 aktivasyonunu sağlar (175). Bu sistem enzimatik olmayan, mikroorganizmaların membran yapısının bozulmasına ve litik ölümlerine neden olan bir sistemdir (172). MAC patojenlerin hücre membranına girerek, membranın geçirgenliğini bozar ve böylece mikroorganizma osmotik olarak erir veya apoptoza uğrar (169).

Özet olarak kompleman sisteminin görevleri şu şekilde sayılabilir:

1. Oponizasyon ve hücre uyarımı
2. Kemotaksis ile fagositlerin çekimi
3. Adaptif immün yanıtın yönlendirilmesi
4. MAC ile doğrudan mikrobiyal lizis

Periodontitisli hastaların dişeti oluğu sıvısında, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında aktif kompleman elemanları sayıca anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. C5a'nın vazodilatasyon, vasküler geçirgenliği artırma, enflamatuvar eksüdanın akışı ve nötrofillerin kemotaksis yoluyla toplanması olaylarını indüklemesiyle lokal kompleman aktivasyonunun periodontal enflamasyonun organizasyonunda etkin rol oynadığı düşünülmektedir (172).

2.4. Periodontal Hastalık Histopatogenezi

Periodontal hastalıkların etiyojisinin ve patogenezinin bilinmesi, hastalığın tedavisinin planlanmasında oldukça önemli olmaktadır. Hastalığın başlamasını ve ilerlemesini, mikroorganizmalar, konak savunma sistemleri ve çevresel faktörlerin birbirleriyle olan ilişkisi belirlemektedir (176).

Periodontal dokulardaki başlangıç enflamasyonu patolojik bir durumdan çok mikrobiyal atağa karşı gelişen fizyolojik bir yanıttır. Bu aşamada klinik olarak dişetinde enflamasyon ve diş yüzeyinde diş taşı oluşumuna sebep olan supragingival ve subgingival plak varlığı görülmektedir (177). Bakteri biyofilmi ile konak doku arasındaki dengenin korunduğu durumlarda enflamasyon dişeti ile sınırlı kalmakta fakat dengenin biyofilm lehine bozulması durumunda periodontitis tablosu gelişmektedir. Page ve Schroeder, gingival ve periodontal enflamasyon gelişimini

histopatolojik olarak 4 evrede tanımlamıştır. Bu evreler; başlangıç lezyonu, erken lezyon, yerleşmiş lezyon ve ilerlemiş lezyondur (178). Başlangıç ve erken lezyon, gingivitisin erken aşamalarını gösterirken, yerleşik lezyon kronik gingivitis, ilerlemiş lezyon ise gingivitisten periodontitise dönüşümü ifade etmektedir (74).

2.4.1. Başlangıç Lezyonu

Başlangıç lezyonu, dental plak birikiminin başlangıcından itibaren 2-4 gün içinde ortaya çıkmaktadır. Başlangıç lezyonu klinik olarak görünür değildir (78) ve plak akümülyasyonuna verilen akut enflamatuvar cevapla karakterizedir. Polimorf nükleer nötrofillerin (PMN) damar dışına migrasyonu ve DOS artışı karakteristik olan bulgularıdır (179). Plak streptokokları, salgıladıkları ürünlerle birleşim epitelinin geçirgenliğini arttırlar ve böylece bakteri ürünleri hücre içine girer, DOS ise dışarı çıkar (5). Plağa erken kolonize olan bakterilerin hücre duvarlarındaki lipoteikoik asit ve peptidoglikan alternatif yoldan kompleman sistemini aktive ederek C3a ve C5a anaflotoksinlerinin üretilmesine sebep olurlar. Anaflotoksinler dişeti sulkusundan doku içerisine girerek mast hücrelerini uyarırlar ve mast hücrelerinden histamin gibi vazoaktif aminler salgılanır (180). Kılcal damarlar genişler, kan akışı ve damar geçirgenliği artar ve böylece ödem meydana gelir (74). Dokularda lokal bir ısı artışı gözlenir (181).

Mast hücrelerinden salgılanan çeşitli adezyon molekülleri PMN'lerin endotele bağlanmasını sağlayarak damar dışı migrasyonunu arttırmaktadırlar. PMN'ler gingival sulkusa ve birleşim epiteline geç ederler. Nötrofillerin infiltrasyonu konakta akut inflamatuvar yanıt oluşumunu başlatır (182). Enflamatuvar infiltrat epitel altındaki bağ dokusunun %5 ila %10'unu kaplar, kollajen kaybı da bu alanda lokalize olmuştur. Bu infiltrasyon boşluğundaki sıvı, serum proteinleri ve enflamatuvar hücreler tarafından doldurulur (179, 183). Aynı zamanda dişeti oluşuna giren PMN'ler biyofilm bakterilerini fagosite edemez ve lizozomal içeriklerini dişeti oluşuna boşaltır. Bu lizozomal enzimler dokulara dönerek bağ dokusu yıkımına eşlik etmektedirler (184).

PMN'ler aynı zamanda 'nötrofil ekstraselüler tuzaklar (NETs)' adı verilen antimikrobiyal kromatin yapıları salgılayarak patojen mikroorganizmalara karşı savunmanın ilk hattında yer almaktadırlar (185).

2.4.2.Erken Lezyon

Plak birikiminden 4-7 gün sonra meydana gelir ve klinik olarak gingivitis bulguları gözlenir (74). Dişeti, inaktif kapiller yatakların açılması ve devam eden vazodilatasyon etkisiyle ödemli ve eritemli bir görünüm kazanır (186). Sondlamada kanama gözlenebilir (74). Klinik olarak enflamasyonun başlangıcından 6-12 gün sonra DOS akışı ve damar dışına göç etmiş lökosit sayısı maksimum düzeye ulaşmaktadır (187).

Lezyonun içeriği, birleşim epitelinin altındaki bağ dokuda esas hücre olan PMN'lerden lenfosit ve makrofaj artışı yönüne doğru değişir. Bu lenfositlerin % 75'i T hücreleridir (74).

Etkilenen dişeti bağ dokusundaki fibroblastlar, apoptoz yoluyla dejenerasyona uğrayarak infiltrasyona uğrayan hücreler için yer sağlamış olurlar. Hücreyel infiltrasyon sebebiyle kollajenin de yaklaşık %70'i yıkılır ve böylece sulkular epitelin apikal ve lateral alanlarında kollojan miktarı azalır (5). Bağlantı epiteli altındaki bağ dokuya doğru retepeg adı verilen çıkıntılar oluşturur. Hücreleri arasının genişlemesi, birleşim epitelinin geçirgenliğinin artmasına sebep olarak bakteri ürünlerinin dişetine daha kolay geçişine fırsat sağlar, bu da enflamatuvar yanıtı arttırmaktadır (188).

Erken lezyon, mevcut plağa karşı oluşan konak yanıtına bağlı olarak stabil kalabilir veya yerleşik lezyona ilerleyebilir (5). Stabil kalan lezyonlarda kollajen yıkılmış olmasına rağmen ataçman kaybı gözlenmez. Plak uzaklaştırıldığında ise dişeti dokusu tekrar sağlıklı haline dönebilir (74).

2.4.3.Yerleşmiş Lezyon

2-3 haftalık plak akümülyasyonunda sonra ortaya çıkan 'yerleşmiş gingivitis' olarak ifade edilen lezyon türüdür. Dişeti klinik olarak daha ödemli ve şişkin bir hal alır (189). Kronik gingivitis olarak da tanımlanabilen yerleşik lezyonda venöz kan

dolaşımı bozulmuştur, eritrositlerin bağ dokusuna geçmesi ve hemoglobinin parçalanmasına bağlı olarak dişetin rengi koyu kırmızı-mavimsi bir renk almaktadır (190).

Yerleşmiş gingivitis lezyonunda belirgin bir hücre infiltrasyonu gözlenir. Erken lezyondan farklı olarak baskın hücreler, plazma ve B hücreleridir (178). Yerleşmiş lezyonda B hücreleri ağırlıklı olarak Ig-1 ve Ig-3 üretmektedir (191). Bağ dokusu kollajeninde artan yıkımla birlikte diş tutunan bağ dokusu ataşmanında kayıplar meydana gelir ve böylece birleşim epitelini apikale ilerleten, periodontal cep oluşumu gözlenir. Cep epitelini belli bölgelerde ülsere alanlar göstererek birleşim epitelinden daha geçirgendir. Böylece mikrobiyal ajanların girişi daha da artarak, IL-1, TNF- α ve PGE2 gibi enflamatuvar sitokinlerin sürekli olarak üretimi gerçekleşmektedir. Bu durumda enflamasyon devam eder ve yıkımın şiddeti artar (192). Epitelial retepeglerin bağ dokusu derinliklerine doğru gelişimi devam etmektedir (193). Yerleşmiş lezyonda devam eden şiddetli kollajen yıkımına rağmen kemik yıkımı gözlenmemektedir (194).

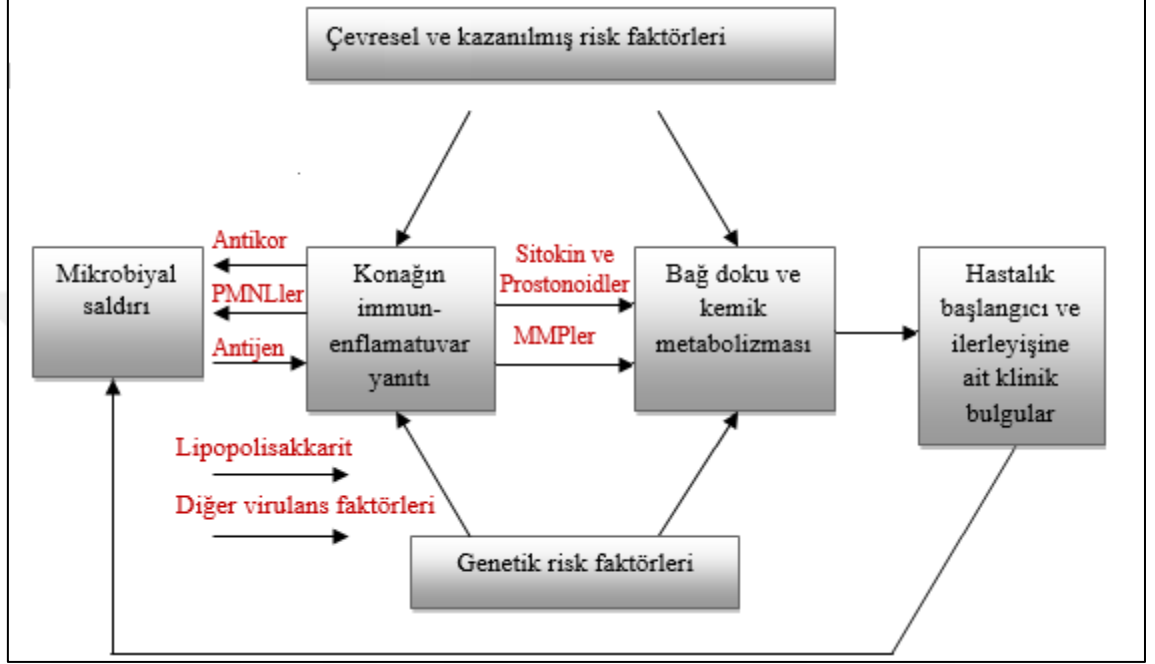
Yerleşmiş lezyon iki farklı şekilde gözlenebilir; bazen aylarca ya da yıllarca ilerlemeden stabil olarak kalır, bazen de aktif hale gelerek yıkıcı bir lezyona ilerleyebilir. Ayrıca yerleşmiş lezyonlar, başarılı bir periodontal tedavi ve plak kontrolüyle tamamen sağlıklı hale de dönebilir (5).

2.4.4. İlerlemiş Lezyon

İlerlemiş lezyon, gingivitisten periodontitise geçişin göstergesidir. Yerleşmiş lezyonla aynı hücre içeriğine sahip olup esas farkı, ataşman ve kemik kaybı meydana gelmesidir (195). Histolojik olarak bakıldığında periodontal ligament ve alveol kemiğine kadar ilerleyen kollajen yıkımı gözlenir (5). Enflamatuvar sitokinler olan IL-1, IL-6, TNF- α ve PGE2 uyarımıyla üretilen MMP'ler, kollajen yıkımı ve ilerlemesiyle de kemik yıkımına sebep olmaktadır (23). Cep içinde ve cep epitelinde nötrofiller baskınken, bağ dokusunda plazma hücreleri baskındır (5).

Kemik dokusu, inflamasyonun ilerlediği alanlarda bir savunma mekanizması olarak geri çekilerek patojenlerin kemiğe yayılmasını önlemektedir. Sonuç olarak osteoklastik kemik rezorpsiyonu gerçekleşmiş olur (5). Birleşim epitelini, kök yüzeyi

boyunca kollajen miktarı azalmış olan bölgelere doğru ilerler ve böylece devam eden kollajen ve kemik yıkımıyla birlikte cep derinliği artar. Enflamatuvar süreç devam ettikçe ve periodontal cep derinliği arttıkça konak cevabı daha da yıkıcı bir hale gelmektedir (63).



ŞEKİL 2. PERİODONTİTİS PATOGENEZİ

2.5. Sitokinler

Sitokinler, epitel hücreleri ve fibroblastlar gibi konak hücrelerinden, enflamasyon sırasında nötrofil ve makrofajlardan, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyonlarda da lenfositler gibi çeşitli hücreler tarafından üretilen düşük molekül ağırlığına sahip proteinlerdir (196). Hücreler arası medyatör olarak davranırlar. Enflamasyon, hücre büyümesi, yara iyileşmesi ve doku hasarına karşı sistemik yanıt oluşturulması gibi olayların düzenlenmesinde görevlidirler (197). Sitokinler genellikle kısa sürede ve geçici olarak üretilirler ve oldukça etkilidirler (198).

Sitokinler polipeptid hormonlara benzer şekilde hedef hücredeki spesifik membran reseptörleriyle etkileşerek hücre içi sinyal kaskadını başlatmaktadırlar. Stokinlerin pek çoğu üretildikleri dokuda lokal etki (otokrin etki) gösterirken, bir kısmı komşu hücelere etki ederek (parakrin etki), bir kısmı da hormonlara benzer şekilde dolaşıma katılarak uzak hücelere etki etmektedirler (endokrin etki) (198).

Bir sitokin çok sayıda hücre tipi üzerinde, çok farklı etkiler oluşturabilir. Buna 'pleiotropik etki (çoklu biyolojik aktivite)' adı verilmektedir. Bunun yanında birçok farklı sitokin de bir hücre üzerinde aynı etkiyi oluşturabilmektedir (199). Bu etkilerin bazıları hemen oluşurken bazıları dakikalar, saatler hatta günler sonra görülebilmektedir. Bir sitokin diğer bir sitokinin fonksiyonunu da etkileyebilir, iki sitokin birbirini antagonize edebilir veya birlikte aditif ya da sinerjik etki gösterebilmektedirler (198). Bazı sitokinler tek tip hücre tarafından üretilebildiği gibi, bazıları ise birçok farklı hücre tipi tarafından da üretilebilirler. (191).

Sitokinler, periodontal hastalıkta oluşan immün cevabın her aşamasında oldukça etkili rol oynamaktadırlar (200). Periodontal dokularda sitokinlerin ve diğer enflamatuvar mediyatörlerin yüksek miktarda ve uzun süre üretilmesi, doku hasarına ve böylece klinik bulguların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (174). Periodontal hastalık patogenezinde en çok rol oynadığı bilinen proenflamatuvar sitokinler; IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α ve PGE2, antienflamatuvar sitokinler ise IL-1Ra, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, ve TGF- β olarak sayılabilir (201, 202).

Periodontal hastalıkta rol oynayan sitokinlerden TNF-a ve IL-1 β en çok çalışılan ve en etkili bulunan sitokinlerdir. Bu sitokinlerin periyodonsiyumda doğal immün yanıtın başlatılması, düzenlenmesi ve devam ettirilmesi olaylarında oldukça etkin rolleri olduğu gösterilmiştir. Vasküler değişiklikler ve nötrofiller gibi efektör hücrelerin periodonsiyuma gelmesi bu sitokinler sayesinde gerçekleşmektedir (200).

MDP'ye karşı erken yanıtta sorumlu olan sitokinler, IL-1 β , IL-1 α , TNF- α , IL-6 olarak belirtilmiştir (174). Aynı zamanda IL-1 β ve IL-6, enflamatuvar hücre göçü ve osteoklast aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur (200).

2.5.1.Ferritin

Ferritin, 1937 yılında, yeni bir protein olarak Fransız bilim adamı Laufberger tarafından at dalağında izole edilmiştir (32). Serum ferritin (SF) miktarı ancak ferritin ve anti-ferritin antikorlarının saflaştırılması ve hassas immünoanaliz tekniklerinin geliştirilmesi sayesinde belirlenmeye başlandı (33). Serum ferritin düzeyi ile toplam vücut demir depoları arasındaki ilişkiyi belirlemek için, normal bir popülasyonda serum ferritin, demir eksikliği olan hastalar ve aşırı demir yükü olan bireylerden ölçümler yapılarak aşırı demir yükü olan hastalarda serum ferritinin yükseldiğini ve demir eksikliği hastalığı olanlarda azaldığını gösterilmiştir (34). Jacobs ve Worwood, serum ferritin tahlillerinin “demir depolanmanın durumunu değerlendirmek için yararlı ve kullanışlı bir yöntem” olarak kullanılabilirliğini öne sürmüşlerdir (35). Ferritin, çoğu dokuda bir sitosolik protein olarak bulunmaktadır ancak yakın zamanda da bir mitokondriyal form tanımlanmış ve nükleer lokalizasyon ve fonksiyonlarının olduğu öne sürülmüştür (36). Ferritin, hücre içi demirin depolanmasında önemli bir rol oynamaktadır (37). Ferritin, H ve L olarak adlandırılan iki tip alt birimden oluşan 24 alt birimli bir proteindir. H insan kalbinden izole edilen daha ağır olan isoform formunu tanımlamaktadır. L ise insan karaciğerinden izole edilmiş daha hafif olan ferritin anlamına gelir. Normalde plazmadaki düzeyi, hücre içindeki ferritin miktarı ile orantılıdır. Birleştirilmiş ferritin proteini içindeki H'nin L alt birimlerine oranı, doku tipine ve gelişim evresine bağlı olarak değişmektedir. İnsan ferritininin H ve L alt birimlerini kodlayan genler, sırasıyla 11q ve 19q kromozomları üzerinde bulunur (38). Hem H hem de L ferritin çoklu psödogenlere sahiptir (39). Memelilerde ferritin H ve L alt birimleri arasındaki amino asit dizisi benzerliği yaklaşık % 50'dir; alt birim tipleri arasındaki dizi koruması daha da fazladır (40).

Ferritinin ayrıntılı salgı yolu tam olarak anlaşılamamıştır. Hücre içerisinde anti enflamatuvar özelliklere sahip olduğu ve ekspresyonunun pro-inflamatuvar sitokinler tarafından düzenlendiği gösterilmiştir. Daha önceki çalışmalarda periodontal bağ dokusundan ekspresyonunu ve periodontal ligament hücrelerinin mineralizasyonunu düzenlediği gösterilmiştir. Periodontitisli hastaların DOS, serum ve tükürüğünde ferritin ekspresyonu da rapor edilmiştir (298). Hepatositlerin, makrofajların ve Kupffer hücrelerinin ferritin salgıladıkları gösterilmiştir (41). L ferritin geleneksel bir sekreter sinyalinin olmamasına rağmen, serum ferritin L ve doku

ferritin L'nin aynı gen tarafından kodlandığı görülmüştür. Ferritin L, klasik salgı yoluyla ferritin L cDNA ile transfekte edilmiş hepatositlerden salgılandığı gösterilmiştir (42). Kültürlenmiş hücre ortamına ferritin salgılanması, demir ve interlekin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekroz faktörü-a (TNF-a) ile artmaktadır (43). Serum ferritin seviyesi, klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır ve demir yükünü tespit etmek için en uygun ve uygun maliyetli yöntem olarak kabul edilmektedir (44).

Enflamatuvar sitokinlerin (IL-1 ve IL-6) translasyonel mekanizmayla ferritin sentezini arttırdığı gösterilmiştir. Artmış serum ferritin seviyeleri enflamasyonun gösteren önemli bir belirteç olabilmektedir. Kronik enflamatuvar hastalıklarda, retikuloendotelial makrofajlardan demir salınımının defektif olduğuna inanılır. Ferritin translasyonu, hepatik ve endotelial hücrelerde, ferritin sentezini arttırarak serum demir seviyesini düşüren ana enflamatuvar sitokin olan IL-1 tarafından gerçekleştirilmektedir (205).

2.5.2.Matriks metalloproteinaz-8

MMP-8, tip 1, 2 ve 3 kollajenlerin hepsini hidrolize etse de tip 1 kollajeni diğerlerine göre daha hızlı yıkıma uğratar ve periodontitisteki yıkımda esas kollajenazdır. MMP-8, kemik iliğindeki PMNL olgunlaşması sırasında sentezlendikten sonra glikozillenir ve spesifik subselüler granüllerde depolanır. MMP-8 nötrofillerin dışında sitokinle uyarılmış mezenşimal hücreler, gingival fibroblastlar, endotelial hücreler, odontoblastlar, epitel hücreleri, makrofajlar, kanserli hücreler ve plazma hücreleri gibi çeşitli hücreler tarafından da sentezlenebilmektedir (203).

Periodontitisteki baskın MMP'ler MMP-8 ve MMP-9 olup nötrofillertarafından salgılanmaktadırlar (25). MMP-8, tip 1, 2 ve 3 kollajenlerin hepsini hidrolize etse de, tip 1 kollajeni diğerlerine göre daha hızlı yıkıma uğratar ve periodontitisteki yıkımın esas kollajenazıdır. MMP-8, kemik iliğindeki PMNL olgunlaşması sırasında sentezlendikten sonra glikozillenir ve spesifik hücre içi granüllerde depolanır. MMP-8 nötrofillerin dışında sitokinle uyarılmış mezenşimal hücreler, gingival fibroblastlar, endotelial hücreler, odontoblastlar, epitel hücreleri,

makrofajlar, kanserli hücreler ve plazma hücreleri gibi çeşitli hücreler tarafından da sentezlenebilmektedir (186).

MMP'lerin periodontal dokuların yıkımında anahtar medyatör olması nedeniyle, periodontal dokulardaki ve DOS'taki varlığı günümüze kadar birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (25,184,186,187). MMP-8'in latent formunun gingivitis ile ilişkili olduğu bulunurken periodontitisteki doku yıkımından aktif MMP-8'in sorumlu olduğu gösterilmiştir (188). Ayrıca periodontitis ve periimplantitisli hastaların DOS'unda baskın MMP olarak PMNL kaynaklı MMP-8 ve MMP-9 olduğu çalışmalarda rapor edilmiştir (25,187). Periodontitisli bireylerdeki DOS ve diş eti kollajenaz aktivitesinin, sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (21,127,188). Kraft-Neumarker ve ark. generalize periodontitisli hastalardan aldıkları DOS örneklerini ELİSA yöntemiyle incelemişler ve aktif MMP-8 seviyeleri ile periodontal cep derinliği arasında anlamlı bir ilişki belirlemişlerdir (189). Konopka ve ark.'nın gerçekleştirdiği 30 generalize periodontitis ve 21 sağlıklı bireyin dahil edildiği başka bir çalışmada ise, cerrahisiz periodontal tedavinin DOS IL-1 β , IL-8 ve MMP-8 seviyelerine etkisini araştırmışlardır. DOS örnekleri tedavi öncesinde, tedavi sonrası 1. ve 4. haftada alınarak ELİSA ile değerlendirilmiştir. Tedavi öncesinde periodontitis grubunda IL-1 β , IL-8 ve MMP-8 seviyeleri yüksek bulunurken periodontal tedavi sonrası bu medyatörlerin anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir (190).

2.5.3. Alkalen fosfataz

Alkalen fosfatazlar (ALP) aktif merkezde serin içeren çinko metalloenzim ailesindedir. Çok sayıdaki organik fosfat esterlerinin hidrolizlerini özellikle alkali pH'da katalizleyen enzim grubudur. Çeşitli ortofosfatlardan inorganik fosfatların salınımına neden olurlar ve hemen hemen tüm dokularda mevcuttur. Doğal substratların pirofosfat, fosfoserin ve fosfoditiletanolamin olduğu düşünülmektedir ve intestinal alkalen fosfataz Ca²⁺ iyonuna bağımlı ATPaz gibi aktivite gösterebilir (47). Alkalen fosfataz ilk defa Tamman tarafından gündeme getirilmiş, Yoshimura ve Takaishi tarafından tanımlanarak, fosfat esterlerini hidrolize etme kapasitesine sahip enzim sistemleri grubuna dahil edilmiştir (48). Alkalen fosfatazlar ilk olarak kemik ve

böbrekten izole edilmiştir (49). Alkalen fosfatazlar, enzim, insan ve hayvan dokularının hemen hemen hepsinde, bazı bitki türlerinde, balıklarda, bakteri ve mantarlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Alkali ortamda fosfatları hidrolize eden bir moleküldür, bu nedenle alkalen fosfataz olarak adlandırılır. PH>7 ise aktivite gösterir. Karaciğer, kemik, bağırsak, böbrek, plasentada bulunan ve kemik dokuda osteoblastlardan salgılanan bir enzimdir (51).

Serum ALP aktivitesi en sık kullanılan kemik yapım belirleyicisidir. ALP, kemikte pirofosfatı hidrolize ederek, hidroksiapatit kristallerinde depolanmak üzere gerekli olan fosfatı sağlar ve mineralizasyonu aktive eder. Bağırsak, plaseenta ve kemik karaciğer-böbrek olmak üzere üç farklı genden kaynaklanan izoenzimler şeklinde bulunur. Kemik, karaciğer ve böbrek izoenzimleri aynı genin ürünü olmakla birlikte, her birinde farklı karbonhidrat yan zincirleri gibi dokuya özgü değişimler bulunur. Dolaşımdaki ALP aktivitesinin çoğunluğu kemik ve karaciğer izoenzimleri ile ilişkili olup, bağırsak izoenziminin katkısı azdır. Hepatobiliyer ve kemik kaynaklı hastalıkların değerlendirilmesinde kullanılır. Sağlıklı çocuklarda süt çocukluğunda yüksek iken daha sonraki dönemde yaşla paralel olarak azalır. Çocuklarda % 80 kemik kaynaklıdır.

Serumdaki ALP aktivitesi kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve ALP'nin, kalsiyum-fosfat komplekslerinin osteoid matriks içerisine birikmesine katkıda bulunan bir organik fosfat bırakarak kemik mineralizasyonuna yardımcı olduğu gösterilmiştir. ALP, inorganik pirofosfatı hidrolize ederek mineralleşmeyi de teşvik etmektedir. Ekstraselüler kalsifiye matriks veziküller içinde hidroksiapatit kristal oluşumu ve çözünmesinde de güçlü bir inhibitör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

ALP, polimorfonükleer lökositler, osteoblastlar, makrofajlar ve periodonsiyum ve dişeti oluşu içindeki fibroblastlar gibi birçok hücre tarafından üretilen membrana bağlı bir glikoproteindir. ALP'ler, periodontal durum ve hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelemek için sıklıkla DOS'ta ölçülmüştür (52). Peri-implantit olan ve olmayan implantlardan alınan DOS'ta ALP araştırılmış ve ALP'nin dental implantlar etrafında kemik kaybının (belirlenmesinde) ümit verici bir belirteç olabileceği öne sürülmüştür (53). Periodontitisli hastaların serumlarında ALP aktivitesinin incelenmesi sonucunda periodontal hastalıkta ataşman kaybı ile serum

ALP aktivitesi arasında ilişki olduğunu gösterilmiştir (54). Sekiz hasta üzerinde yapılan longitudinal bir çalışmada DOS ALP konsantrasyonu ile ataşman kaybı arasında pozitif bir korelasyon gösterilmiştir (55).

ALP'nin, DOS'ta periodontal hastalık aktivitesinin saptanması ve tanısı için potansiyel olarak güçlü bir belirteç olduğu daha önce gösterilmiştir. Periodontitis hastalarından elde edilen DOS'taki ALP düzeylerinin araştırıldığı çalışmada , sondlama cep derinliği ve ortalama kemik kaybı ile pozitif ve anlamlı bir şekilde korele olduğunu bildirmiştir (56).

ALP nötrofillerde mevcuttur ve ayrıca bazı oral bakterilerce de yapılabilmektedir. Mikrobik flora ve yumuşak dokuya ilaveten ALP için bir diğer kaynağın kemik olduğuda söylenebilir. Birçok enzim gibi ALP'nin kaynağı da oldukça karmaşıktır. Gingivitisli hastalarda, gingival cep sıvılarındaki yüksek ALP aktivitesi, çok sayıdaki ve karmaşık bakteriyel birikmenin sonucu olabilir (204).

2.6. Dişeti Oluğu Sıvısı

DOS, dişeti kapillerlerinden kaynaklanan bir serum komponentidir ve bu sıvı konağın bakteri karşısında verdiği yanıtta katkı sağlayan doğal, inflamatuvar ve adaptif immün molekülleri içermektedir. DOS, birçok araştırmacı tarafından inflamatuvar eksuda olarak sınıflandırılmaktadır (206). DOS'un yalnızca hastalık varlığında inflamatuvar bir eksudaya dönüştüğü, sağlıklı dokulardan kaynaklandığında bir çeşit serum transüdası olduğunu belirten kanıtlar gösterilmiştir (207).

DOS, gingival pleksusu oluşturan kan damarlarından kaynağını alır ve birleşim epitelinden sızarak dişeti sulkusuna gelmektedir. DOS'un az miktarlarda sağlıklı sulkuslardan da izole edildiği gösterilmiştir (208). Kimyasal veya mekanik uyarıların DOS akışının uyarılması için gerekliliği patolojik bir durumu temsil etse de Brill yaptığı çalışmalarda, DOS'un dişeti oluğu bölgesinin korunmasında oldukça önemli bir bileşen olduğunu vurgulamıştır (209). Yapılan deneysel çalışmalarla DOS'un yıkama etkisiyle (210) bakterileri kaldırabildiği, konak kökenli veya antibiyotik gibi dolaşıma sokulan antibakteriyel ürünleri oluk boşluğuna taşımada önemli bir rol üstlendiği ortaya konulmuştur (211).

Sağlıklı periodonsiyumda DOS, osmatik gradyant tarafından üretilen dişeti dokusundaki interstisyel sıvıyı temsil eder (208). Pashley'in başlangıçta transüda olarak kabul ettiği bu sıvı, çeşitli uyaranlar sonucunda enflamatuvar eksudaya dönüşmektedir (212).

DOS, saatte birkaç mikrolitre gibi oldukça az bir akışa sahiptir. Sağlıklı periodonsiyumda ya hiç yok ya da yok denecek kadar az bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu araştırmacılar, DOS akış hızının enflamasyon şiddetiyle orantılı olarak arttığını belirtmişlerdir (213, 214). DOS akışı ortalama olarak sağlıklı sığ ceplerde 3-8 µl/saat, orta derinlikteki periodontal ceplerde 20 µl/saat ve çok derin periodontal ceplerde 137 µl/saat olarak tespit edilmiştir (215). Yapılan bir araştırmada da periodontitisli bölgelerde DOS akışının, periodontal olarak sağlıklı bölgelere kıyasla yaklaşık 30 kat arttığı ve iyi bir periodontal tedaviyle DOS akışının sağlıklı bölgelerdeki seviyelere gerilemesi gerektiği bildirilmiştir (216). Periodontal dokularda görülen enflamasyonun yanında DOS akış hızı, sert gıdaların çiğnenmesi, oral kontrasptif kullanımı, ovulasyon ve hamilelik gibi durumlarda ve periodontal tedavi sonrası artmaktadır (217).

Enflamatuvar süreçte çeşitli hücre tipleri, sitokinler, proteinler, proteinazlar, fosfatazlar gibi enflamatuvar faktörler ve lokal doku yıkım ürünleri DOS içine salınmaktadır. Dolayısıyla DOS içeriği, elektrolitleri, küçük organik molekülleri, proteinleri, sitokinleri, spesifik antikorları, bakteriyel antijenleri, ve bakteri ve konak kaynaklı enzimleri içeren kan, konak dokuları ve subgingival biyofilm kaynaklı moleküllerin birleşiminden oluşmaktadır (208). DOS'un organik içeriği seruma benzese de immünglobulinler ve kompleman faktörleri gibi lokal üretilen ürünleri de barındırmaktadır. Bunun yanı sıra DOS, serumda bulunmayan bakteri metabolitlerini de içerebilmektedir (21).

DOS içindeki hücreler esas olarak epitel hücreleri, lökositler ve bakteri hücreleridir. DOS'da virüslerin varlığı da bildirilmiştir (218). DOS içeriğindeki epitel hücreleri, sulkuler ve birleşim epitelinin turnover mekanizmasıyla dökülmüş epitel hücreleridir. Bu epitel hücrelerinin devamlı olarak yenilenmesi üzerlerine tutunmuş bakteri hücrelerinin de temizlenmesine katkı sağlamaktadırlar (217). DOS içerisinde saptanan lökositlerin de yaklaşık %95'ini nötrofillerin oluşturduğu, %2-3 oranında

monosit/makrofaj ve % 1-2 oranında da lenfosit yer aldığı belirtilmiştir . DOS’da ayrıca eritrositlerin tespit edilmesi ileri derecelerdeki enflamasyonlarda görülen damarsal bir hasar meydana geldiğinin göstergesi olarak değerlendirilmiştir (219) .

DOS içeriğinde hücrelerin yanı sıra çeşitli elektrolitler de bulunmaktadır ve başlıcaları sodyum, potasyum ve kalsiyumdur. Bunların yanında flor, fosfat, magnezyum da saptanmıştır (220). Ayrıca DOS içerisinde bir çok protein molekülü ve glikoz barındırmaktadır. DOS içeriğindeki protein konsantrasyonu, enflamasyon varlığında artmaktadır (217).

Proteinleri, proteoglikanları, lipitleri ve karbonhidratları parçalayan bir çok enzim çeşidi DOS’da saptanmıştır. Enzimler, özellikle proteinazlar sağlıkta periodontal doku turnoverında ve peridontal hastalıkta doku yıkımında anahtar rol oynamaktadır (216). Nötrofiller, fibroblastlar ve osteoklastlar tarafından üretilen matriksmetalloproteinazlar(MMP), bağ dokusu kollajenini ve alveolar kemiği yıkıma uğratan proteinazlardandır (221). DOS’daki esas kaynağı PMNL’ler olan MMP-8 aktivitesinin, farklı periodontal hastalıklara sahip bireylerinde yapılan bir çalışmada, aktif periodontitisli bireylerde anlamlı derecede yükseldiği rapor edilmiştir (222).

Periodontitis ve periimplantitisli hastaların DOS’unda baskın MMP olarak PMNL kaynaklı MMP-8 ve MMP-9 olduğu çalışmalarda rapor edilmiştir. Periodontitisli bireylerdeki DOS ve dişeti kollajenaz aktivitesinin, sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (223).

Alveol kemik bütünlüğünün sürdürülmesinde ve periodontal ligament yenilenmesinde önemli rolü olan alkalen fosfataz da DOS’da saptanan bir glikoprotindir. Bir çok hücre tarafından üretilen alkalen fosfatazın DOS’daki esas kaynağının PMNL’ler olduğu düşünülmektedir. Gingival sağlık ve deneysel gingivitiste benzer alkalen fosfataz seviyeleri saptanmasına karşın (56), yapılan çalışmalarda klinik ataşman kaybı meydana gelişinden önce artmış alkalen fosfataz seviyeleri belirlenmiştir. Ayrıca hastalığın aktif olduğu bölgelerde DOS içindeki toplam alkalen fosfataz miktarının yüksek olduğu belirtilmiştir (224).

DOS içeriğinde ayrıca PMNL’lerden salgılanan myeloperoksidaz ve laktoferrin gibi antibakteriyel ürünler de yer almaktadır. IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi enflamatuvar sitokinler de DOS içeriğinde tespit edilmektedir (225, 226).

Bunların yanısıra DOS'da periodontal bağ dokusunu yıkımını işaret eden hidroksiprolin ve pridinolin kollajen yıkım ürünleri gösterilmiştir (227).

Ferritin, çoğu dokuda bir sitosolik protein olarak bulunmaktadır ancak yakın zamanda da bir mitokondriyal form tanımlanmış ve nükleer lokalizasyon ve fonksiyonlarının olduğu öne sürülmüştür (36).

Sistemik yolla uygulanan antibiyotiklerden doksisisiklin, minosiklin ve tetrasiklin de DOS'a geçtiği bilinen ilaçlardır (228). Spiramisin ve metronidazolün DOS konsantrasyon seviyelerinin de patojen bakteri inhibisyonu için gereken seviyenin üzerine çıkarak bunu uzun süre koruduğu bildirilmiştir. DOS'daki spiramisin konsantrasyonu seruma göre daha yüksek seviyede tespit edilmiştir (229).

DOS içerisindeki tüm bu bileşenler önce sulkusa sonra ağız boşluğuna geçmektedir. Birleşim epitelinin hücreleri arasındaki geniş boşluklar, DOS için bir rezarvuvar alanı oluşturur. Böylelikle bakterilerin epitel içerisine girmesi engellenirken bakteri ürünlerine karşı da bir diffüzyon bariyeri oluşturulur. Konak kaynaklı enzim ve antikorlar da DOS'un diffizyonu sulkusa geçer (219). Birleşim epiteli bu fonksiyonlarıyla konak savunma elemanlarının ve DOS'un dişeti kenarına ulaşmasını sağlar (230).

DOS'un içeriği ve akış yönüne bakıldığında, periodontal dokuların lokal savunmasında oldukça önemli olduğunu göstermektedir (217). Enflamasyon sırasında artan DOS akışı, bakterileri ve bakteri ürünlerini dişeti oluştundan yıkama etkisiyle uzaklaştırır. Bu mekanik yıkama etkisi konak savunmasına katkı sağlamaktadır (230). Yıkama etkisinin bu avantajının yanında periodontal hastalıkta cep içerisine uygulanan antimikrobiyallerin hızlı bir şekilde bölgeden uzaklaşmasına neden olma gibi bir dezavantajı da bulunmaktadır. Bu dezavantajı ortadan kaldırmak için kontrollü salınım yapan antibakteriyel tedavi uygulamaları geliştirilmiştir. DOS akışının yıkama etkisinin yanında ikinci bir karakteristik özelliği ise izolasyon etkisidir. Dışardan gelen maddeler periodontal cep içine kolayca penetre olamamaktadır (215). Bu doğrultuda antibakteriyel ağız gargaralarının periodontal cep içine geçmediğini gösteren önemli çalışmalar mevcuttur (231). Sonuç olarak DOS, retrograt tükürük akışını engelleyerek tükürük içeriğinin genel olarak periodontal cep içerisine girememesine sebep olur bu da periodontal ceple ağız boşluğu arasında bir izolasyon sağlar (215).

DOS içerdiği myeloperoksidaz, laktoferrin gibi birçok antibakteriyel bileşikler de bakterilerin kolonizasyonunun engellenmesinde doğrudan etkilidir (219). Bunun yanısıra DOS içerisinde yer alan immünglobulinler de lokal olarak sentezlenerek patojenlere karşı gelişen humoral immüniteye katkı sağlamaktadır. DOS’da baskın olan IgG ve bunun yanında IgA saptanmıştır. Sağlıklı bölgelerden alınan DOS örneklerinde immünglobulinlerin seviyeleri oldukça düşükken, gingivitisli ve periodontitsli bölgelerde immünglobulin seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (232). Reinhardt ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada DOS IgG seviyeleri aktif bölgelerle stabil periodontitis bölgeleri karşılaştırıldığında serumla benzer şekilde anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda IgG4 aktif bölgelerde serumdan 25 kat fazla tespit edilmiştir (233).

2.7. Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi

Cerrahi olmayan periodontal tedavi, faz I tedavi, başlangıç tedavisi, etkene yönelik tedavi olmak üzere birçok isim ile anılmaktadır. Cerrahi olmayan periodontal tedavinin amacı diş eti ve periodontal hastalıklara katkıda bulunan mikrobiyal etiyoloji ve faktörleri mümkün olan en büyük ölçüde değiştirmek ya da ortadan kaldırmaktır. Böylelikle hastalığın ilerlemesi durdurulur ve dentisyon sağlıklı durumuna geri döndürülür(302).

Cerrahi olmayan periodontal tedavi, kanıta dayalı Amerikan Periodontoloji uygulama kılavuzları tarafından, kapsamlı bir günlük plak kontrol rejiminin başlatılması, periodontal-sistemik ilişkilerin gerektiği gibi yönetimi, supra ve subgingival bakteri plak biyofilmi ve diş taşlarının uzaklaştırılması, gerekli olduğu durumlarda kimyasal ajanların kullanılması ve lokal faktörlerin ortadan kaldırılması olarak tanımlanmıştır (303).

Bu prosedürler hastalığın derecesine bakılmaksızın periodontal tedavide gereklidir. Birçok durumda, periodontal sağlığın iyileştirilmesi için yalnızca cerrahi olmayan periodontal tedavi gerekmekte veya cerrahi tedavi için hazırlık safhasını oluşturmaktadır. Etkene yönelik, cerrahi olmayan periodontal tedavinin amacı, patojenik biyofilmlerin, toksinlerin ve diş taşlarının uzaklaştırılması ve biyolojik

açıdan kabul edilebilir bir kök yüzeyinin yeniden kurulmasını amaçlayan yaklaşım olarak belirtilmiştir (302).

Etkili bir ağız hijyeninin uygulaması tüm alanlara kolaylıkla ulaşılmasını gerektirmektedir. Bu durum diş yüzeylerinin diş taşı ve diğer tüm düzensizliklerden arındırılmış olmasıyla sağlanabilmektedir. Aşağıdaki unsurlar, cerrahi olmayan periodontal tedaviyi oluşturmaktadır (301).

1. Diş taşının tamamen uzaklaştırılması
2. Uygun olmayan restorasyonların ve protezlerin düzeltilmesi veya değiştirilmesi
3. Çürük lezyonların restorasyonu
4. Ortodontik diş hareketleri
5. Gıda sıkışma alanlarının tedavisi
6. Oklüzal travmanın tedavisi
7. Umutsuz dişlerin çekimi
8. Gerekli plak örneklemeleri ve duyarlılık testleri yapıldıktan sonra muhtemel antimikrobiyal ajanların kullanımı

Periodontal hastalıkların ilerleyişinin plak ve diş taşı miktarıyla ilişkisi ilk olarak 1950'li yıllarda rapor edilmiş ve cep derinliği ve enflamasyonun azaltılmasında birinci basamak tedavi olarak diş yüzeylerindeki tüm eklentilerin uzaklaştırılması fikri ilk kez ortaya atılmıştır (304). Daha sonra enflamatuvar süreçlerde bakteriyel plağın aldığı merkezi rolün keşfedilmesiyle birlikte, bakterilerden salınan enzim ve endotoksinlerin doğrudan periodonsiyum hasarı oluşturduğu ortaya çıkarılmıştır (305). Bugün kabul edilen görüş; diş yüzeylerinde ve diş eti oluşunda biriken sınırlı sayıdaki periodontal patojenin çoğu periodontal hastalık formunu başlatabileceği, ancak diş destek dokularının yıkımından büyük oranda konak yanıtının sorumlu olduğu şeklindedir(11). Bununla birlikte plak birikimiyle ilgili kabul edilen görüşte de ilerleme kaydedilmiştir. Bakteriyel plağın karmaşık biyofilm yapısında bulunduğu ve diş taşının bakteriyel biyofilmi barındırabilecek bir plak retansiyon faktörü olduğu iyi bilinmektedir (58). Pratik açıdan bakıldığında diş taşının klinik olarak tespit edilmesi bölgedeki enflamasyonun büyük olasılıkla devam edeceği anlamına gelmektedir (306). Bu nedenle patojenik bakterileri barındırabilecek yüzey düzensizliklerinin

mümkün olduğunca giderilmesi için diş taşlarının tamamen uzaklaştırılması görüşü kabul görmektedir (57). Yapılan bir araştırmada subgingival diş taşına klorheksidin dezenfeksiyonu yapılmasından sonra subgingival diş taşı üzerinde epitelyal tutunma gerçekleştiği gösterilmiştir (307).

Başlangıçta kök yüzeyi düzleştirilmesi uygulamasının temeli bakteriyel endotoksinlerin sement içine penetre oldukları düşüncesine dayanmaktaydı (308). Bu nedenle kök yüzeylerinden sadece biyofilm ve diş taşlarının değil; altındaki sementin de kaldırılması düşünülmekteydi. Ancak yapılan deneysel çalışmalardan elde edilen kanıtlar; endotoksinlerin sement içine penetre olmadığı ve sadece yüzeyde gevşek olarak tutunduğunu göstermiştir (309). Bu nedenle kök yüzeylerinin agresif olarak düzleştirilmesi görüşü terk edilerek, cep/kök enstürmantasyonunun, etkin şekilde biyofilmi bozması ve diş taşlarını uzaklaştırması; aynı zamanda en az seviyede sement dokusunun kaldırması hedeflenmektedir (57).

Hastalık patogenezi ve ilerleyişini etkileyen faktörlere yönelik bilginin önemli gelişmeler olmasına rağmen, diş yüzeylerinden eklentilerin uzaklaştırılması amacıyla yapılan geleneksel mekanik debridman uygulamaları periodontal tedavinin ayrılmaz parçası olmayı sürdürmektedir (310).

3. GEREÇ YÖNTEM

3.1.Çalışma Grupları

Bu çalışmaya İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Kliniğine Nisan 2019 – Eylül 2019 tarihleri arasında başvuran 18-60 yaş arası, periodontal olarak sağlıklı (n=20), plağa bağlı kronik gingivitisli (n=20) ve periodontitisli (n=20) toplam 60 gönüllü dahil edildi.

Çalışma İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınarak gerçekleştirildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

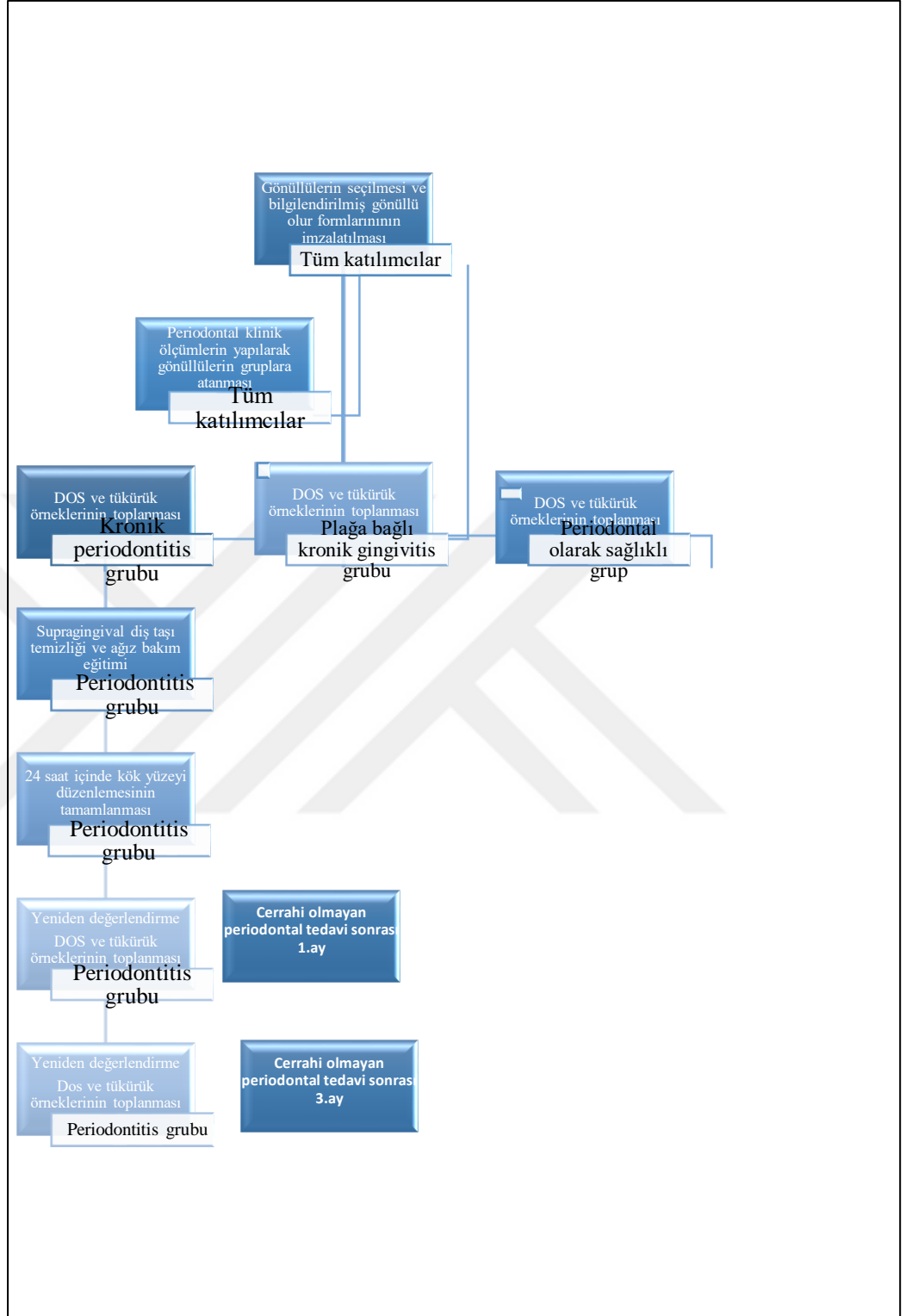
- Sistemik olarak sağlıklı (Sağlıklı gönüllülerin belirlenmesi, alınan anamnezde hastaların beyanlarına göre belirlenmiştir. İlave tetkikler yapılmamıştır.)
- Ağızda toplam en az yirmi daimi dişi bulunan
- Sigara kullanmayan
- Sürekli kullandığı bir medikasyonu olmayan
- Son 6 ay içerisinde antibiyotik, antiinflamatuvar ve sistemik kortikosteroid ilaç kullanmamış olan
- Son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmemiş olan
- Hamilelik veya laktasyon döneminde olmayan
- Periodontitis grubu için; her dişin 4 bölgesinde yapılan değerlendirmeye göre %30 ve daha fazla alanda sondlamada kanama gösteren, her bir çeyrek çenede komşu olmayan en az 2 dişte 5 mm veya daha fazla sondlama cep derinliğine sahip ve 4mm veya daha fazla ataşman kaybı bulunan, radyografide koronal 1/3 ve daha fazla (horizontal ve/veya vertikal) kemik kaybı görülen

- Gingivitis grubu için; her dişin 4 bölgesinde yapılan değerlendirmeye göre %10 ve daha fazla alanda sondlamada kanama gösteren, 4mm'den daha az sondlama derinliğine sahip ve ataşman kaybı bulunmayan
- Sağlıklı grup için; her dişin 4 bölgesinde yapılan değerlendirmeye göre %10'dan daha az alanda sondlamada kanama gösteren, 4mm'den daha az sondlama derinliğine sahip olan ve ataşman kaybı bulunmayan bireyler çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

- Herhangi bir oral veya sistemik hastalığa sahip olan
- Düzenli olarak sistemik bir medikasyon kullanan
- Hamilelik veya laktasyon döneminde olan
- Son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmüş olan
- Son 6 ay içerisinde antibiyotik, antienflamatuvar veya sistemik kortikosteroid ilaç tedavisi görmüş olan
- Sigara içen bireyler çalışmaya dahil edilmedi.

Yapılması planlanan araştırmanın amaçları ve uygulanacak işlemler gönüllülere anlatıldı. Bilgilendirilen ve çalışmada yer almayı kabul eden gönüllülerin yazılı onamları alınarak araştırmaya dahil edildi. Detaylı bir sistemik anamnez alındıktan sonra yapılan klinik ve radyografik değerlendirmeler sonucunda belirtilen kriterlere uygun olarak seçilen, yaşları 18 ile 60 arasında değişen, 20 periodontal olarak sağlıklı, 20 plağa bağlı kronik gingivitisli ve 20 periodontitisli olmak üzere toplam 60 gönüllü birey çalışmaya dahil edildi.



ŞEKİL 3. ÇALIŞMA PLANI

3.2. Hastaların Klinik Periodontal Durumlarının Değerlendirilmesi

İlk seansta, çalışma gruplarındaki hastaların bütün doğal dişlerinde sondlama cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), plak indeksi (Pİ), gingival indeks (Gİ) ve sondlamada kanama indeksi (SKİ) ölçümleri yapıldı.

3.2.1. Sondlama cep derinliği

Çalışmaya katılan tüm bireylerin her dişinin mesiobukkal, bukkal, distobukkal, mesiopalatinal/lingual, midpalatinal/lingual, distopalatinal/lingual 6 noktasından, 0,5 mm çapında Williams tipi periodontal sond ile (Nordent Manufacturing Inc, IL, USA) cep/sulkus tabanında hafif bir direnç hissedilene kadar sond yerleştirilip, cep/sulkus tabanından serbest dişeti kenarına kadar olan mesafe milimetre cinsinden ölçülmüş ve hasta kartlarına kaydedilmiştir.

Her hasta için sondlanabilen cep derinliği ortalaması değerleri, tüm dişlerdeki sondlanabilen cep derinliği değerleri toplamının, mevcut toplam diş sayısının indeks alınan diş yüzey sayısı (6) ile çarpımına bölünmesiyle hesaplandı.

$$SCD = \frac{\text{Tüm dişlerdeki SCD değerleri toplamı}}{\text{mevcut diş sayısı} \times 6}$$

ŞEKİL 4. SONDLAMA CEP DERİNLİĞİ FORMÜLÜ

3.2.2. Sondlamada kanama indeksi

Çalışmaya katılan tüm bireylerin her dişinin mezial, bukkal, distal ve palatinal/lingual 4 yüzeyinde sond ile sulkus içersinde gezdirilmiştir. Sond cepten /sulkustan çıkarıldıktan 30 saniye SKİ sondlamada kanama görülen bölgeler için pozitif, kanama görülmeyen bölgeler için negatif olarak skorlanmıştır.

Tüm ağız için sondlamada kanama değeri yüzde olarak aşağıdaki formüle göre belirlendi.

TABLO 3. SONDLAMADA KANAMA SKORLARI

+	Sondlamada kanama var
-	Sondlamada kanama yok

$$SK = \frac{\text{Sondalamada kanama görülen diş yüzeyi sayısı}}{\text{toplam diş yüzeyi sayısı (mevcut diş sayısı x 4)}} \times 100$$

ŞEKİL 5. SONDLAMADA KANAMA İNDEKSİ FORMÜLÜ

3.2.3. Plak indeksi

Çalışmaya katılan tüm bireylerin ağız hijyen düzeylerinin belirlenmesi amacı ile oral kavitede bulunan dişlerin 4 yüzeyinden (meziobukkal, bukkal, distobukkal, palatinal/lingual) 0,5 mm çapında Williams tipi sond (Nordent Manufacturing Inc, IL, USA) kullanılarak plak indeksi skorları kaydedilmiştir (Tablo 5).

TABLO 4. PLAK İNDEKSİ SKORLARI

0	Dişeti bölgesinde plak yok.
1	Çıplak gözle fark edilemeyen, ancak sond ucunun diş çevresinde gezdirilmesiyle açığa çıkarılan plak varlığı.

2	Gözle görülür tarzda, dişeti kenarında ve diş yüzeyinde orta dereceli plak varlığı
3	Dişetinde ve diş yüzeyinde yoğun plak varlığı.

$$PI = \frac{\text{Tüm dişlerdeki mevcut değerlerin toplamı}}{\text{Mevcut diş sayısı} \times 4}$$

ŞEKİL 6. PLAK İNDEKSİ FORMÜLÜ

Her hasta için plak indeksi ortalaması değerleri, tüm dişlerdeki plak indeksi değerleri toplamının, mevcut toplam diş sayısının indeks alınan diş yüzey sayısı (4) ile çarpımına bölünmesiyle hesaplandı.

3.2.4. Gingival indeks

Çalışmaya katılan tüm bireylerin dişeti sağlığı durumlarını belirlemek için 0,5 mm çapında Williams tipi sond (Nordent Manufacturing Inc, IL, USA) kullanılarak, sondun dişeti kenarında gezdirilmesi ile her dişin 4 bölgesinden (meziobukkal, bukkal, distobukkal, palatinal/lingual) gingival indeks değerleri ölçülüp hasta kartlarına işlenmiştir (Tablo 6).

TABLO 5. GİNGİVAL İNDEKS SKORLARI

0	Sağlıklı dişeti.
1	Hafif enflamasyon, hafif renk değişikliği, hafif ödemle karakterize dişeti, sondlamada kanama yok.
2	Orta dereceli enflamasyon, dişeti parlak, kırmızı ve ödemlidir. Sondlamada kanama vardır.
3	Şiddetli enflamasyon, belirgin kırmızılık ve ödem vardır. Ülserasyonlar ve spontan kanamaya meyil mevcuttur.

$$Gİ = \frac{\text{Tüm dişlerdeki Gİ değerleri toplamı}}{\text{Mevcut diş sayısı} \times 4}$$

ŞEKİL 7. GİNGİVAL İNDEKS FORMÜLÜ

Her hasta için gingival indeks ortalaması değerleri, tüm dişlerdeki gingival indeks değerleri toplamının, mevcut toplam diş sayısının indeks alınan diş yüzey sayısı (4) ile çarpımına bölünmesiyle hesaplandı.

Tüm bu klinik ölçümler tek bir klinisyen tarafından ölçülerek hasta kartlarına işlendi. Klinik periodontal indekslerin kaydı tüm hasta gruplarında birer kez yapıldı.

3.3.DOS Örneklerin Elde Edilmesi

DOS örnekleri periodontal olarak sağlıklı bireylerden her bir çeyrek çenede rastgele seçilen 4 farklı dişin birer yüzeyinden, plağa bağlı gingivitisli hastalardan her bir çeyrek çenede 4 farklı dişte, Gİ değeri 2 ve SKİ (+) olan toplam 4 bölgeden, periodontitisli hastalardan, her bir çeyrek çenede en derin periodontal ceplerin olduğu, SKİ (+) ve Gİ değeri 2 olan toplam 4 bölgeden klinik indeksler alındıktan en az 1 gün sonra toplandı (234) .

Örnek alınacak bölge irritasyon yaratmayacak şekilde tükürük kontaminasyonundan kaçınmak amacıyla pamuk rulolar yardımıyla izole edildi,örnek alınacak dişlerdeki supragingival plak steril kretuvarlarla (Hu-Friedy Manufacturing Co. Inc, Chicago, IL, USA) uzaklaştırıldı ve hava spreyi ile hafifçe kurutuldu. DOS örnekleri bu amaçla özel olarak hazırlanmış kağıt stripler (Periopaper®, Proflow Incorporated , New York, USA), 1-2 mm'den fazla olmayacak şekilde gingival oluk / periodontal cep girişine yerleştirilerek elde edildi (226). Kanla veya tükürük ile kontamine olan örnekler çalışmaya dahil edilmedi.



RESİM 1. DOS ÖRNEĞİNİN ELDE EDİLiŞİ

Her bir kağıt şerit sulkusta/cepte 30 saniye tutulduktan sonra toplanan DOS hacminin hesaplanması için her bir kağıt şerit hiç zaman kaybedilmeden Periotron® 8000 cihazı (Oraflow, NY, USA) ile değerlendirildi (Resim 1). 16 saniye içerisinde periotron değerleri okundu. Elde edilen periotron skorları bilgisayar programı kullanılarak mikrolitre (μl) birimine çevrilip kaydedildi. Her bir kağıt şeritin periotrona okutulmasından önce üretici firmanın tavsiyesi doğrultusunda periotron elektrotları alkollü pamuk ile silinerek kurutuldu. Kuru bir periopaper ile 0 skoru kontrol edildi. Böylece iki okuma işlemi arasında elektrotların tamamen kuru olması sağlandı. Bu işlemle hastadan elde edilen dört şerit önceden numaralandırılmış aynı eppendorf tüpün içerisine konularak, tüpler parafin bant ile izole edildikten sonra, örnekler önce -20°C 'de daha sonra analiz gününe kadar -80°C 'de saklandı (235).



RESİM 2. PERIOTRON® 8000 CİHAZI

3.4. Tükürük örneklerinin eldesi

Uyarılmamış tükürük örneği almak için hasta dik oturtulup, başı öne doğru eğilerek ağız tabanında tükürüğün toplanması sağlandı. Bu şekilde oluşan tükürük 15 dakika boyunca steril bir kaptaki biriktirildi. Ardından steril enjektör yardımıyla propilen tüpe aktarıldı. Tüpler, santrifüj cihazında 10 dakika boyunca santrifüj edildi (1000 devir). Daha sonra propilen tüpün üst kısmında kalan berrak kısım steril enjektör yardımıyla alınarak her tüpte 0,5 ml olacak şekilde farklı propilen tüpe aktarıldı. Tüpler parafin bant ile izole edildikten sonra analiz gününe kadar -80°C’de saklandı.

3.5. Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi

Çalışmaya katılmayı kabul eden tüm katılımcılara öncelikle periodontal hastalığın ne olduğu ve nedenleri ile ilgili bilgi verildi, daha sonra periodontal hastalık etkeni mikrobiyal dental plağın nasıl uzaklaştırılması gerektiği anlatıldı. Buna göre; günde 2 defa, orta sertlikte bir diş fırçası ile dişlerini günde en az 2 kez fırçalamaları gerektiği, hem hasta ağızlarında plak boyayıcı ajanlar ile mikrobiyal dental plağın boyanıp gösterilmesiye, hem de modeller üstünde uygulamalı olarak anlatıldı. Diş fırçasını 45 ° derece açı ile diş - diş eti birleşimine yaslayıp hafif yatay dairesel hareketler yaparak bukkal ve lingual/palatinal yüzeylerde fırçalama yaptıktan sonra

oklüzal yüzeylerde fırçayı ileri geri hareket ettirerek diş yüzeylerinin temizlenmesi sağlandı. Ayrıca etkin bir arayüz temizliği için yapılması gerekenler anlatıldı. (57)

DOS ve tükürük örnekleme yapıldıktan sonra periodontitisli hasta grubuna ultrasonik aletler (EMS, Swiss Dental Academy, Switzerland) ve el aletleri (Hu-Friedy Manufacturing Co. Inc, Chicago, IL, USA) ile diş taşı temizliği yapıldı. Hastalara ağız bakımı eğitimi anlatılıp bir sonraki seans için randevu verildi. Bir sonraki tedavi seansında subgingival kök yüzeyi düzenlemesine başlanıp yaklaşık 24 saat içerisinde tamamlandı. Mekanik periodontal tedaviye ek olarak antibiyotik veya antiinflamatuvarlar gibi ilaçlar kullanılmadı.

3.6.Laboratuvar İşlemleri

DOS ve tükürük örneklerinden MMP-8, ALP ve Ferritin biyolojik belirteçlerinin seviyelerinin tayini enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.6.1.DOS Örneklerinin ELISA İçin Hazırlanması

DOS örneklerine 200 mikrolitre PBS-T (%0.05 Tween 20 ve Fosfat Buffer Saline karışımı) eklendikten sonra 240 rpm de 15 dakika orbital çalkalayıcı üzerinde bekletilip 4⁰C'de 5000 rpm de 3 dk santrifüj edildi. 300 mikrolitre daha PBS-T eklendikten sonra 1 gece beklenip ertesi gün 4⁰C'de 2 dakika 13000 rpm de santrifüj edildi.

3.6.2.Tükürük Örneklerinin ELISA İçin Hazırlanması

Hastalardan alınan uyarılmamış tükürük propilen tüpe yerleştirildi. Tüpler 1200 devir/8 dakika santrifüjlendi ve berrak kısmı farklı steril tüplere alınarak çalışmaya kadar -80⁰C' de bekletildi. Çalışma yapılacağı zaman çıkarılıp oda ısısına getirilen tükürük örnekleri ELISA için direkt olarak kullanıldı.

3.6.3.DOS Ferritin analizi

Ferritin antikoru ile kaplı kuyucuklara hasta DOS örnekleri pipetlendi. Her kuyucuğa biotin işaretli antikor ve streptavidin işaretli HRP enzimi eklenerek bir saat 37°C de inkübe edildikten sonra 5 kez 350 mikrolitre yıkama solusyonuyla yıkama yapıldı. HRP enzimi için substrat eklendikten sonra 37°C de karanlıkta inkübasyon sonrası H₂SO₄ kullanılarak reaksiyon sonlandırıldı. ELISA plate okuyucuda 450nm'de absorbanslar okunup standart absorbans eğrisine göre konsantrasyon hesaplandı. ELISA yöntemi için Thermo Scientific™ (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, USA) marka yarı otomatik ELISA cihazında Ferritin ELISA kiti kullanıldı.

3.6.4.DOS Alkalen fosfataz analizi

Alkalen fosfataz antikoru ile kaplı kuyucuklara hasta DOS örnekleri pipetlendi. Her kuyucuğa biotin işaretli antikor ve streptavidin işaretli HRP enzimi eklenerek bir saat 37°C de inkübe edildikten sonra 5 kez 350mikrolitre yıkama solusyonuyla yıkama yapıldı. HRP enzimi için substrat eklendikten sonra 37°C de karanlıkta inkübasyon sonrası H₂SO₄ kullanılarak reaksiyon sonlandırıldı. ELISA plate okuyucuda 450nm'de absorbanslar okunup standart absorbans eğrisine göre konsantrasyon hesaplandı. ELISA yöntemi için Thermo Scientific™ (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, USA)marka yarı otomatik ELISA cihazında ALP ELISA kiti kullanıldı.

3.6.5.DOS MMP-8 analizi

MMP-8 antikoru ile kaplı kuyucuklara hasta DOS örnekleri pipetlendi. Her kuyucuğa biotin işaretli antikor ve streptavidin işaretli HRP enzimi eklenerek bir saat 37°C de inkübe edildikten sonra 5 kez 350mikrolitre yıkama solusyonuyla yıkama yapıldı. HRP enzimi için substrat eklendikten sonra 37°C de karanlıkta inkübasyon sonrası H₂SO₄ kullanılarak reaksiyon sonlandırıldı. ELISA plate okuyucuda 450nm'de absorbanslar okunup standart absorbans eğrisine göre konsantrasyon hesaplandı. ELISA yöntemi için Thermo Scientific™ (Multiskan™ GO Microplate

Spectrophotometer, USA) marka yari otomatik ELISA cihazında MMP-8 ELISA kiti kullanıldı.

3.6.7. Tükürük Ferritin analizi

Antikor ile kaplı kuyucuklara hasta tükürüğü pipetlendi. 1 saat oda sıcaklığında 300 rpm devirde shaker üzerinde inkübe edildikten sonra 350 mikrolitre yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı. Her kuyucuğa biotin işaretli antikor eklendi, 1 saat oda sıcaklığında 300 rpm devirde shaker üzerinde inkübe edildi. 350 mikrolitre yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı. Streptavidin işaretli HRP enzimi eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 3 kez 350 mikrolitre yıkama solusyonuyla otomatik yıkama yapıldı. HRP enzimi için substrat eklendikten sonra oda sıcaklığında karanlıkta 15 dk inkübasyon sonrası H₂SO₄ kullanılarak reaksiyon sonlandırıldı. ELISA plate okuyucuda 450 nm'de absorbanslar okunup standart absorbans eğrisine göre konsantrasyon hesaplandı. ELISA yöntemi için Thermo Scientific™ (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, USA) marka yari otomatik ELISA cihazında Ferritin ELISA kiti kullanıldı.

3.6.8. Tükürük Alkalen Fosfataz analizi

Alkalen fosfataz Antikor ile kaplı kuyucuklara hasta tükürüğü pipetlendi. 1 saat oda sıcaklığında 300 rpm devirde shaker üzerinde inkübe edildikten sonra 350 mikrolitre yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı. Her kuyucuğa biotin işaretli antikor eklendi, 1 saat oda sıcaklığında 300 rpm devirde shaker üzerinde inkübe edildi. 350 mikrolitre yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı. Streptavidin işaretli HRP enzimi eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 3 kez 350 mikrolitre yıkama solusyonuyla otomatik yıkama yapıldı. HRP enzimi için substrat eklendikten sonra oda sıcaklığında karanlıkta 15 dk inkübasyon sonrası H₂SO₄ kullanılarak reaksiyon sonlandırıldı. ELISA plate okuyucuda 450 nm'de absorbanslar okunup standart absorbans eğrisine göre konsantrasyon hesaplandı. ELISA yöntemi için

Thermo Scientific™ (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, USA) marka yarı otomatik ELISA cihazında ALP ELISA kiti kullanıldı.

3.6.9. Tükürük MMP-8 analizi

MMP-8 Antikor ile kaplı kuyucuklara hasta tükürüğü pipetlendi. 1 saat oda sıcaklığında 300 rpm devirde shaker üzerinde inkübe edildikten sonra 350 mikrolitre yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı. Her kuyucuğa biotin işaretli antikor eklendi, 1 saat oda sıcaklığında 300 rpm devirde shaker üzerinde inkübe edildi. 350 mikrolitre yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı. Streptavidin işaretli HRP enzimi eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 3 kez 350 mikrolitre yıkama solusyonuyla otomatik yıkama yapıldı. HRP enzimi için substrat eklendikten sonra oda sıcaklığında karanlıkta 15 dk inkübasyon sonrası H₂SO₄ kullanılarak reaksiyon sonlandırıldı. ELISA plate okuyucuda 450 nm'de absorbanslar okunup standart absorbans eğrisine göre konsantrasyon hesaplandı. ELISA yöntemi için Thermo Scientific™ (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, USA) marka yarı otomatik ELISA cihazında MMP-8 ELISA kiti kullanıldı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS Statistics Standard Concurrent User V 26 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler birim sayısı (n), yüzde (%), ortalama±standart sapma ($\bar{x} \pm ss$) değerleri olarak verildi. Sayısal değişkenlere ait ham verilerin ve farkların normal dağılımı Shapiro Wilk normallik testi ile değerlendirildi. Varyansların homojenliği Levene testi ile değerlendirildi. Çalışma gruplarının yaş dağılımları tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Tek yönlü varyans analizinde çoklu karşılaştırma testi olarak Tukey testi kullanıldı. Grupların yaş dağılımı istatistiksel olarak farklı bulunduğu için dental değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında tek yönlü kovaryans analizi kullanıldı. Tek yönlü kovaryans analizinde çoklu karşılaştırma testi olarak Sidak testi kullanıldı. Periodontitisli grupta dental değişkenlerin başlangıç, birinci ve üçüncü ay

karşılaştırmasında tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizinden yararlanıldı. Tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizinde çoklu karşılaştırma testi olarak Bonferroni testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışmada her bir grupta 20 olmak üzere toplam 60 hasta yer almıştır. Tablo 6'e göre gruplardaki erkek ve kadın dağılımları eşittir. Yaş dağılımları gruplarda istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Periodontitisli (P) gruptaki hastaların yaşları istatistiksel olarak sağlıklı grup (S) ve gingivitis gruptaki (G) hastalardan yüksektir.

TABLO 6. CİNSİYET VE YAŞ DEĞİŞKENLERİNE GÖRE GRUPLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

	Gruplar			Test İstatistikleri	
	S $n=20$	G $n=20$	P $n=20$	Test değeri	p değeri
Cinsiyet, (%)				-	-
Erkek	10 (50,0)	10 (50,0)	10 (50,0)		
Kadın	10 (50,0)	10 (50,0)	10 (50,0)		
Yaş, (yıl) $\bar{x}\pm ss$	26,9 \pm 6,6 ^a	30,2 \pm 6,77 ^a	44,2 \pm 9,0 ^b	$F=29,627$	<0,001

S: Sağlıklı grup, G: Gingivitis grup, P: Periodontitisli grup, \bar{x} : Ortalama, ss : Standart sapma, F : Tek yönlü varyans analizi, a ve b üst simgeleri gruplar arası yaş farkını göstermektedir. Aynı harflerin yer aldığı gruplar istatistiksel olarak benzerdir.

TABLO 7. GRUPLARIN GİNGİVAL İNDEKS (Gİ), SONDALAMADA KANAMA İNDEKSİ (SKİ), PLAK İNDEKSİ (Pİ), SONDALAMA CEP DERİNLİĞİ (SCD) VE DİŞETİ OLUĞU SIVISI (DOS) HACİM DEĞERLERİNE GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI*

Gruplar			Test İstatistikleri		
	S n=20	G n=20	P n=20	F değeri	p değeri
	$\bar{x}\pm sh$	$\bar{x}\pm sh$	$\bar{x}\pm sh$		
Gİ	0,20±0,07 ^a	1,64±0,05 ^b	2,08±0,07 ^c	33,933	<0,001
SKİ (%)	6,15±4,48 ^a	56,22±3,49 ^b	47,65±4,77 ^b	3,628	0,033
Pİ	0,14±0,12 ^a	1,50±0,09 ^b	1,81±0,12 ^b	4,837	0,012
SCD	1,24±0,22 ^a	1,78±0,16 ^a	3,82±0,23 ^b	3,882	0,027
DOS Hacim	0,43±0,12 ^a	0,66±0,09 ^a	1,32±0,13 ^b	5,953	0,005

* Yaşa göre düzeltilmiş değerlerdir, \bar{x} : Ortalama, *sh*: Standart hata, *F*: Tek yönlü kovaryans analizi, *a*, *b* ve *c* üst simgeleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harflerin yer aldığı gruplar istatistiksel olarak benzerdir.

Tablo 7'ye göre grupların Gİ değerleri istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. En yüksek Gİ değeri P grubuna ait iken en düşük değer S grubuna aittir. G ve P gruplarının SKİ ve Pİ değerleri istatistiksel olarak benzer olup, S grubu SKİ ve Pİ değerleri diğer iki gruptan düşüktür. P grubunun SCD ve DOS hacim değerleri istatistiksel olarak S ve G gruplarından yüksektir. S ve G gruplarının SCD ve DOS hacim değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır.

TABLO 8. FERRİTİN DEĞİŞKENLERİNİN GRUPLARA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI*

	Gruplar			Test İstatistikleri	
	S n=20	G n=20	P n=20	F değeri	p değeri
	$\bar{x} \pm sh$	$\bar{x} \pm sh$	$\bar{x} \pm sh$		
Total (ng/30sn)	0,193±0,035 ^a	0,303±0,032 ^b	0,437±0,040 ^b	8,166	0,001
Konsantrasyon (ng/μl)	1,46±0,25	1,46±0,23	1,85±0,29	0,527	0,593
Tükürük (ng/μl)	1,03±0,41	1,38±0,37	2,73±0,46	3,028	0,056

* Yaşa göre düzeltilmiş değerlerdir, \bar{x} : Ortalama, *sh*: Standart hata, *F*: Tek yönlü kovaryans analizi, *a*, *b* ve *c* üst simgeleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harflerin yer aldığı gruplar istatistiksel olarak benzerdir.

Tablo 8'te gruplar ferritin değişkenlerine göre karşılaştırılmıştır. Tablo 5'e göre grupların elisa değerleri istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. En düşük Elisa değerleri S, en yüksek elisa değerleri P grubuna aittir. Total (ng/30sn) değerleri G ve P gruplarında istatistiksel olarak benzer olmakla birlikte S grubu total (ng/30sn) değerleri yönünden G ve P gruplarından istatistiksel olarak düşüktür. Grupların konsantrasyon ve tükürük değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli değildir.

TABLO 9. MMP-8 DEĞİŞKENLERİNİN GRUPLARA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI*

	Gruplar			Test İstatistikleri	
	S n=20	G n=20	P n=20	F değeri	p değeri
	$\bar{x} \pm sh$	$\bar{x} \pm sh$	$\bar{x} \pm sh$		
Total (ng/30sn)	0,040±0,011	0,054±0,010	0,065±0,013	0,848	0,434
Konsantrasyon (ng/μl)	0,32±0,06	0,25±0,06	0,28±0,07	0,364	0,696
Tükürük (ng/μl)	0,82±0,25 ^a	0,94±0,23 ^a	2,02±0,29 ^b	4,123	0,021

* Yaşa göre düzeltilmiş değerlerdir, \bar{x} : Ortalama, *sh*: Standart hata, *F*: Tek yönlü kovaryans analizi, *a* ve *b* üst simgeleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harflerin yer aldığı gruplar istatistiksel olarak benzerdir.

Tablo 9’ya göre gruplar MMP-8 değişkenlerine göre karşılaştırılmıştır. Tablo 6’ya göre grupların elisa total (*ng/30sn*) ve konsantrasyon değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli değildir. Tükürük değerleri S ve G gruplarında istatistiksel olarak benzerdir. P grubu tükürük değerleri istatistiksel olarak S ve G gruplarından yüksektir.

TABLO 10. ALP DEğİŞKENLERİNİN GRUPLARA GÖRE KARŐILASTIRILMASI*

	Gruplar			Test İstatistikleri	
	S <i>n</i> =20	G <i>n</i> =20	P <i>n</i> =20	<i>F</i> değeri	<i>p</i> değeri
	$\bar{x}\pm sh$	$\bar{x}\pm sh$	$\bar{x}\pm sh$		
Total (<i>pg/30sn</i>)	21,541±1,975	22,922±1,805	28,593±2,247	2,266	0,113
Konsantrasyon (<i>pg/μl</i>)	172,66±20,79	112,97±19,01	121,37±23,65	2,648	0,080
Tükürük (<i>pg/μl</i>)	704,13±141,55 ^a	778,99±129,39 ^a	1709,93±161,06 ^b	10,048	<0,001

* Yaşıa göre düzeltilmiş değerlerdir, \bar{x} : Ortalama, *sh*: Standart hata, *F*: Tek yönlü kovaryans analizi, *a*, *b* ve *c* üst simgeleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harflerin yer aldığı gruplar istatistiksel olarak benzerdir.

Tablo 10’da ALP değişkenlerinin gruplara göre karşılaştırılması yer almaktadır. P grubunun elisa tükürük değerleri istatistiksel olarak S ve G gruplarından yüksektir. S ve G gruplarının elisa tükürük değerleri istatistiksel olarak benzerdir. Total (*pg/30sn*) ve konsantrasyon değerleri gruplarda istatistiksel olarak benzer dağılım göstermektedir.

TABLO 11. PERİODONTİTİSLİ GRUPTA GİNGİVAL İNDEKS (Gİ), SONDALAMADA KANAMA İNDEKSİ (SKİ), PLAK İNDEKSİ (Pİ), SONDALAMA CEP DERİNLİĞİ (SCD) VE DİŞETİ OLUĞU SIVISI (DOS) HACİM DEĞERLERİNİN ÖLÇÜM ZAMANLARINA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI

	Ölçüm Zamanı			Test İstatistikleri	
	Başlangıç	Birinci Ay	Üçüncü Ay	F değeri	p değeri
	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$		
Gİ	1,82±0,34 ^a	0,32±0,18 ^b	0,71±0,47 ^c	85,820	<0,001
SKİ (%)	42,88±19,16 ^a	24,29±10,74 ^b	34,98±17,15 ^{ab}	9,306	<0,001
Pİ	1,78±0,51 ^a	0,60±0,31 ^b	0,53±0,23 ^b	131,409	<0,001
SCD	3,81±1,09 ^a	2,29±0,43 ^b	1,96±0,36 ^b	69,074	<0,001
DOS Hacim	1,05±0,62 ^a	0,54±0,13 ^b	0,68±0,25 ^b	8,998	<0,001

\bar{x} : Ortalama, *ss*: Standart sapma, *F*: Tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi, *a*, *b* ve *c* üst simgeleri ölçümler arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harflerin yer aldığı ölçümler istatistiksel olarak benzerdir.

Tablo 11’de periodontitisli grupta Gİ, SKİ, Pİ, SCD ve DOS Hacim değerlerinin ölçüm zamanlarına göre karşılaştırılması yer almaktadır. Gİ değerleri tüm ölçüm zamanlarında istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. Gİ değerleri başlangıçta en yüksek, birinci ayda en düşük değerlere sahiptir. SKİ birinci ay değerleri istatistiksel olarak başlangıç değerlerinden düşüktür. Üçüncü ay SKİ değerleri başlangıç ve birinci ay değerleri ile istatistiksel olarak benzerdir. Başlangıç Pİ, SCD ve DOS hacim değerleri istatistiksel olarak birinci ve üçüncü ay değerlerinden yüksek olup, birinci ve üçüncü ay değerleri istatistiksel olarak benzerdir.

TABLO 12. PERİODONTİTİSLİ GRUPTA FERRİTİN DEĞİŞKENLERİNİN ÖLÇÜM ZAMANLARINA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI

	Ölçüm Zamanı			Test İstatistikleri	
	Başlangıç	Birinci Ay	Üçüncü Ay	<i>F</i> değeri	<i>p</i> değeri
	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$		
Total (ng/30sn)	0,472±0,187 ^a	0,216±0,084 ^b	0,309±0,186 ^b	14,242	<0,001
Konsantrasyon (ng/μl)	2,04±1,13	1,46±0,65	1,70±1,02	1,700	0,196
Tükürük (ng/μl)	3,36±2,74 ^a	1,59±1,36 ^b	2,04±1,71 ^{ab}	4,491	0,018

\bar{x} : Ortalama, *ss*: Standart sapma, *F*: Tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi, *a* ve *b* üst simgeleri ölçümler arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harflerin yer aldığı ölçümler istatistiksel olarak benzerdir.

Tablo 12’de periodontitisli grupta ferritin değişkenlerinin ölçüm zamanlarına göre karşılaştırılması yer almaktadır. Tabloya göre başlangıç elisa ile total değerleri istatistiksel olarak birinci ve üçüncü ay değerlerinden yüksektir. Birinci ve üçüncü ay değerleri istatistiksel olarak benzerdir. Ölçüm zamanlarındaki konsantrasyon değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli değildir. Başlangıç tükürük değerleri istatistiksel olarak birinci ay değerlerinden yüksek olup, üçüncü ay tükürük değerleri başlangıç ve birinci ay değerleri ile benzerdir.

TABLO 13. PERİODONTİTİSLİ GRUPTA MMP-8 DEĞİŞKENLERİNİN ÖLÇÜM ZAMANLARINA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI

	Ölçüm Zamanı			Test İstatistikleri	
	Başlangıç	Birinci Ay	Üçüncü Ay	<i>F</i> değeri	<i>p</i> değeri
	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$		
Total (ng/30sn)	0,066±0,070 ^a	0,036±0,012 ^b	0,037±0,017 ^b	3,262	0,049
Konsantrasyon (ng/μl)	0,30±0,41	0,24±0,12	0,23±0,18	0,360	0,700
Tükürük (ng/μl)	2,06±1,54 ^a	1,15±0,73 ^b	1,35±0,95 ^b	5,454	0,008

\bar{x} : Ortalama, ss : Standart sapma, F : Tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi, a ve b üst simgeleri ölçümler arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harflerin yer aldığı ölçümler istatistiksel olarak benzerdir.

Tablo 13’de periodontitisli grupta MMP-8 değişkenlerinin ölçüm zamanlarına göre karşılaştırılması yer almaktadır. Tabloya göre başlangıç elisa, total ($ng/30sn$) ve tükürük değerleri istatistiksel olarak birinci ve üçüncü ay değerlerinden yüksek olup, birinci ve üçüncü ay değerleri istatistiksel olarak benzerdir. Ölçüm zamanlarındaki konsantrasyon değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli değildir.

TABLO 14. PERIODONTİTİSLİ GRUPTA ALP DEĞİŞKENLERİNİN ÖLÇÜM ZAMANLARINA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI

	Ölçüm Zamanı			Test İstatistikleri	
	Başlangıç	Birinci Ay	Üçüncü Ay	F değeri	p değeri
	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$		
Total ($pg/30sn$)	28,436±12,857	23,262±4,867	22,250±10,979	1,633	0,209
Konsantrasyon ($pg/\mu l$)	131,91±119,31	156,64±46,22	143,45±64,08	0,420	0,660
Tükürük ($pg/\mu l$)	1882,71±948,94 ^a	1328,52±365,1 6 ^b	1317,46±761,9 5 ^b	6,700	0,003

\bar{x} : Ortalama, ss : Standart sapma, F : Tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi, a ve b üst simgeleri ölçümler arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harflerin yer aldığı ölçümler istatistiksel olarak benzerdir.

Tablo 14’de periodontitisli grupta ALP değişkenlerinin ölçüm zamanlarına göre karşılaştırılması yer almaktadır. Tabloya göre ölçüm zamanlarındaki elisa, total ($ng/30sn$) ve konsantrasyon değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli değildir. Başlangıç tükürük değerleri istatistiksel olarak birinci ve üçüncü ay değerlerinden yüksektir. Birinci ve üçüncü ay tükürük değerleri istatistiksel olarak benzerdir.

TABLO 15. Gİ, SKİ(%), Pİ VE SCD'NİN FERRİTİN, MMP-8 VE ALP İLE KORELASYONLARI

	Gİ		SKİ (%)		Pİ		SCD	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Ferritin Dos total (ng/30sn)	0,483	<0,001	0,311	0,016	0,531	<0,001	0,567	<0,001
Ferritin Dos kons	0,120	0,362	-0,018	0,890	0,191	0,143	0,339	0,008
Ferritin tükürük	0,356	0,005	0,219	0,093	0,384	0,002	0,576	<0,001
MMP-8 Dos total (ng/30)	0,200	0,126	0,138	0,293	0,176	0,178	0,129	0,326
MMP-8 Dos kons	-0,064	0,627	-0,070	0,593	-0,081	0,539	-0,031	0,814
MMP-8 Tükürük	0,292	0,023	0,108	0,412	0,307	0,017	0,564	<0,001
ALP Dos total (ng/30)	0,239	0,066	0,188	0,151	0,174	0,185	0,227	0,081
ALP Dos kons	-0,262	0,043	-0,232	0,074	-0,244	0,060	-0,100	0,448
ALP Tükürük	0,402	0,001	0,125	0,340	0,378	0,003	0,675	<0,001

r: Pearson korelasyon katsayısı

Ferritin Dos total (ng/30sn) seviyesi ile Gİ, SKİ (%), Pİ ve SCD arasında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulunmaktadır. Ferritin Dos konsantrasyon ile SCD arasında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulunmaktadır.

Ferritin tükürük seviyesi ile Gİ, Pİ ve SCD arasında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulunmaktadır.

MMP8 tükürük seviyesi ile Gİ, Pİ ve SCD arasında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulunmaktadır.

ALP Dos total (ng/30sn) seviyesi ile Gİ ve SCD arasında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulunmaktadır.

ALP Dos konsantrasyon seviyesi ile Gİ arasında istatistiksel olarak **negatif** korelasyon bulunmaktadır.

ALP tükürük ile Gİ, Pİ ve SCD arasında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulunmaktadır.

Tablodaki diğer ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemli değildir.

TABLO 16. PERIODONTİTİSLİ GRUPTA FERRİTİN MİKTARLARININ TOTAL(NG/30SN), KONSANTRASYON (NG/μL) VE TÜKÜRÜK (NG/μL) ARASINDAKİ DEĞİŞKENLERİN KORELASYONU

Ölçüm Zamanı		Tükürük (ng/μl)		Konsantrasyon (ng/μl)	
		<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Başlangıç	Total (ng/30sn)	0,388	0,091	0,309	0,186
	Konsantrasyon (ng/μl)	0,047	0,843	-	-
Birinci Ay	Total (ng/30sn)	0,511	0,021	0,785	<0,001
	Konsantrasyon (ng/μl)	0,271	0,247	-	-
Üçüncü Ay	Total (ng/30sn)	0,090	0,706	0,749	<0,001
	Konsantrasyon (ng/μl)	-0,160	0,500	-	-

r: Pearson korelasyon katsayısı

Tabloya göre başlangıç tükürük, total ve konsantrasyon değişkenleri arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulunmamaktadır. Birinci ayda total değerler tükürük ve konsantrasyon değerleri ile istatistiksel olarak pozitif korelasyona sahiptir. Üçüncü ayda total değerler konsantrasyon değerleri ile istatistiksel olarak pozitif korelasyona sahiptir.

Tablodaki diğer ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemli değildir.

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar, dişler üzerindeki bakteri birikimlerine yanıt olarak diş çevreleyen dokularda meydana gelen enflamatuvar süreci ifade eder. Bu bakteri birikimlerinin dişeti dokusunda oluşturduğu enflamatuvar yanıtlar, diş, altındaki alveolar kemiğe bağlayan kollajen ataşmanın yıkımından hatta kontrol edilmezse dişin kaybindan sorumludur (238). Hastalığın oluşmasında patojenik bakteri biyofilminin varlığı şart olsa da tek başına yeterli olmadığı bilinmektedir. Hastalık, biyofilm ve enflamasyona karşı konak savunma sistemi arasındaki kompleks birçok etkileşimden kaynaklanır ve bu etkileşimler periodontal doku yıkımının esas sebebini oluşturur (110).

Periodontal hastalık yapıcı bakterilerin konak savunmasını nötralize etmeyi amaçlayan ve periodontal dokuları yıkıma uğratan çok sayıda güçlü virulans faktörleri bulunmaktadır (72). Bu patojenler, kendi virulans faktörlerinin yıkıcı etkisinin yanı sıra, salgıladıkları enzimler aracılığıyla konak dokularını uyararak konak dokularından da doku yıkımına sebep olabilecek çeşitli biyolojik mediatörlerin salınmasını sağlamaktadır (72). Bu durum bize, doku yıkımında patojen türlerin varlığının haricinde konak savunma sistemi ile aralarındaki dengenin önemini göstermektedir (5). Dahası, belirli mikroorganizmaların periodontal hastalığın ilerleyici tiplerinde etkin olduğu kanıtlanmışken, hastalığın ilerlemediği kişilerde de bu mikroorganizmaların saptanabilmesi, periodontitis gelişiminin bakterilerin yıkıcı etkisinden ziyade, konak bağışıklık ve enflamatuvar yanıt sürecinin bir sonucu olduğunu yansıtmaktadır (164).

Konak, subgingival biyofilmden gelen bakteriyel atağı kontrol altına alabilmek için kronik immünoenflamatuvar bir yanıt geliştirmektedir (165). Oluşan bu konak yanıtı, periodonsiyumu bir taraftan bakteri ataklarına karşı koruyup patojenlerin derin dokulara yayılmasını engellerken, bir taraftan da çevresindeki hücrelere ve ekstrasellüler matrikse zarar vererek periodontal dokuda hasara sebep olmaktadır (81). Periodonsiyumda gelişen enflamatuvar yanıt sonucu, nötrofiller, lenfositler, fibroblastlar, makrofajlar ve epitel hücreleri gibi çok çeşitli konak hücrelerinden

enzimler, sitokinler ve prostaglandinler gibi enflamatuvar moleküller ortama salınmaktadır (239).

Sitokinlerin, periodontal hastalık patogenezinde oldukça etkili rol oynadığı belirtilmiştir (200). Periodontal dokularda sitokinlerin ve diğer enflamatuvar mediyatörlerin yüksek miktarda ve uzun süre üretilmesi, doku hasarına ve böylece klinik bulguların ortaya çıkmasına sebep olur (174).

Periodontal dokuların sağlığının sürdürülmesi, konak immün sisteminin doğru şekilde işleyişiyle gerçekleşir. İmmün yanıtta meydana gelen herhangi bir bozulma veya düzensizlik, periodontal hastalık seyrini etkileyerek doku yıkımında artışa sebep olabilir (5). Bu sebeple son yıllarda yapılan çalışmalarda periodontal hastalık patogenezinde konak yanıtı üzerine odaklanılmış, immünoenflamatuvar yanıt üzerindeki düzenleyici rolleri sebebiyle konak tarafından salınan sitokinler, prostanoidler, enzimler ve bunların birbiriyle olan etkileşimleri araştırılmıştır (240, 241).

Çalışmamızda periodontal olarak sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli bireylerin DOS MMP-8, ALP ve ferritin seviyelerinin belirlenmesi, karşılaştırılması ve bu sitokinlerin klinik parametreler ile olası korelasyonlarının değerlendirilmesi amaçlandı. Sitokin seviyelerini etkileyebilecek olası faktörler göz önüne alınarak çalışmaya dahil edilme ve edilmeme kriterleri belirlendi. Çeşitli sistemik hastalıkların (romatoid artrit, diabet, kardiovaskular hastalıklar, enflamatuvar solunum sistemi hastalıkları vb.) periodontal hastalık görülme sıklığı ve hastalığın seyri üzerine etkisi olduğu bildirilmiştir (242). Ayrıca sistemik hastalıkların konak sitokin ve enzim salınım miktarları üzerine de etkili olduğu gözlemlenmiştir (243). Bu yüzden çalışmaya dahil edilen bireylerin sistemik olarak sağlıklı olmasına, bunun yanı sıra hamilelik ve laktasyon döneminde DOS seviyelerinde artış ve periodontal hastalığa bağlı gelişen doku yanıtında sağlıklı bireylere göre farklılık gözlemlendiği belirtildiğinden (244), kadınların hamilelik veya laktasyon döneminde olmamasına dikkat edilmiştir.

Sigara kullanımının bireylerde, periodontal hastalığa olan yatkınlığı ve hastalığın şiddetini arttırdığı belirtilmiştir (245). Aynı zamanda sigara kullanımı, hastaların DOS içeriğindeki IL-4, IL-6, IL-8 gibi çeşitli sitokin seviyelerini ve IgA ve

IgG gibi serum antikor seviyelerini etkilediğinden, çalışmamıza sigara kullanan bireyler dahil edilmemiştir (246).

Sistemik antienflamatuvar ve antibiyotik ilaç kullanımı periodontal dokuların enflamasyon derecesini ve doku yıkımını azaltıcı etkiler göstermektedir (247, 248). Yapılan çalışmalarda bu tip ilaçların DOS hacmi ve içeriğinde de değişikliğe sebep olabileceği rapor edilmiştir (228, 249). Bu nedenle çalışmamıza son 6 ay içerisinde antienflamatuvar veya antibiyotik ilaç kullanan bireyler dahil edilmemiştir.

Çalışmamıza 18-60 yaş aralığındaki bireyler dahil edilmiştir. Çalışmaya katılan bireylerin yaş ortalamaları S grubunda $26,9 \pm (6,6)$, G grubunda $30,2 \pm (6,77)$ ve P grubunda $44,2 \pm (9,0)$ olarak belirlenmiştir.

Periodontal hastalıklar her ne kadar MDP içerisindeki virülan mikroorganizmalar yoluyla başlasa da, periodontal hastalık nedeniyle oluşan doku yıkımı konağın immün/inflamatuvar yanıtı ile doğrudan ilişkilidir (250). Çeşitli sitokinler ve bakteriyel lipopolisakkaritler periodontal hastalık patogenezinde önemli role sahiptir. Bu nedenle hastalık patogenizini anlamaya yönelik yapılan çalışmalar önem kazanmaktadır (63, 251).

Tükürük ve dişeti oluğu sıvısı periodontal doku cevabının analiz edilmesinde sıklıkla kullanılan biyolojik materyallerdir. Özellikle hem elde edilmelerinin oldukça kolay olması hem de invaziv olmayan yöntemlerle elde edilmeleri nedeniyle çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadırlar (252). Bizim çalışmamızda da DOS ve tükürük örneklerinde enflamasyonla ilişkili MMP-8, ALP ve ferritin seviyeleri değerlendirilmiştir.

Periodontal hastalıklarda DOS'un biyokimyasal analizinin konak yanıtının değerlendirilmesinde kullanılan invaziv olmayan bir yöntem olduğu belirtilmiştir (253). DOS'un diagnostik sıvı olarak kullanılmaya başlaması 1950'li yıllara kadar dayanmaktadır (254). Son yıllarda yapılan çalışmalarda aktif periodontal hastalıklarda enflamatuvar yanıtın değerlendirilmesi ve risk analizlerinde DOS ölçümleri sıklıkla kullanılmaktadır (221, 253). DOS örneklerinin analizi ile mevcut hastalık aktivitesinin değerlendirilmesi ve yapılacak tedavilerde tedavi planlamasına katkı sağlaması birçok klinik çalışmanın amacı olmuştur (221, 255).

DOS örneklerinin toplanmasında literatürde farklı tekniklerden bahsedilmiştir (217). Bizim çalışmamızda DOS örnekleri kağıt şeritler kullanarak alındı. Bu tekniğin avantajları; hızlı kolay uygulama, tüm bölgelerden toplamaya elverişli olması ve minimal travmadır. Kağıt şeritlerle toplamada da farklı teknikler mevcuttur. Bunlar temel olarak cep içi ve cep dışı olarak ikiye ayrılmıştır (217). DOS örnekleri kağıt stripler cep içerisine 1 mm girecek şekilde yerleştirilerek alındı (256). Kan ve tükürük ile kontaminasyon hacim artışına neden olduğu için kan ve tükürükle kontamine olan örnekler çalışmaya dahil edilmedi. Alınan örneklerin hacmi Periotron® 8000 (Oraflow Inc, Plainview, NY, ABD) ile ölçüldükten hemen sonra steril propilen tüplere yerleştirilip ağızları parafin bantla sarılarak ortamdaki izole edildi.

Klinik ölçümler sırasında kanama ve irritasyon olabildiği için, DOS örnekleri klinik ölçümleri takiben en erken 24 saat sonra toplandı. Çalışmalarda DOS'un toplanması için farklı sürelerden 3 sn (257), 15sn (258), 20sn (259), 30sn (260), 1 dk (214) ve 2 dk (261) bahsedilmiştir. Fakat son yapılan çalışmalar incelendiğinde 30 sn ideal zaman olarak düşünülmüştür ve çalışmamızda da DOS örneklerini alırken 30 sn bekletilmiştir (262, 263).

DOS hacmi ve konsantrasyonları ayrı ayrı belirlendi. Periodontal hastalıklarda DOS içeriğindeki sitokin seviyelerinde meydana gelen değişimleri değerlendirmede total miktarlar, konsantrasyon miktarından daha anlamlı bir belirteç olarak kabul edilmektedir (86). Bunun nedeni incelenen biyokimyasal parametrenin DOS konsantrasyonunun doğrudan DOS hacminden etkilenmesi ve ayrıca periodontal hastalık durumlarında klinik bulgu olarak DOS hacminin artmasıyla incelenen sitokin ve proteinin DOS konsantrasyonunda azalmaya neden olmasıdır (264). Bu nedenle DOS MMP-8, ALP ve ferritin bulguları total miktar üzerinden değerlendirilmiştir.

Tükürük bezleri parotis, submandibüler ve sublingual olmak üzere üç majör tükürük bezi ve oral mukozanın farklı yerlerine dağılmış sayısız minör tükürük bezinden meydana gelir (265). Tükürük, diğer biyolojik sıvılar gibi, hastalıkların ve çeşitli patolojik durumların teşhisinde kullanılabilir. Tam tükürük incelemesinin diğer biyolojik sıvılara göre avantajları vardır. Tükürük örneklerinin alınması özel ekipman gerektirmeyen, invaziv olmayan ekonomik bir yöntemdir (266).

Tükürük örnekleri tüm ağız içerisinden tam tükürük veya belirlenen tükürük bezlerinden parsiyel olarak alınabilmektedir (267). Fakat tam tükürüğün DOS'dan gelen sitokinleri ve doku metabolitlerini de içermesi nedeniyle incelenmesinin daha anlamlı olduğu belirtilmiştir (266). Ayrıca DOS örneklerinde sadece belirli dişlerden örnekler alınırken tam tükürük incelemesinde, tüm dişlerden gelen dişeti oluğu sıvıları da tükürükte toplandığı için sistemik durumları DOS'tan daha iyi yansıtılabileceği belirtilmiştir (255). Araştırmamızda bu sebeplerden dolayı bireylerden tam tükürük örnekleri toplanmıştır.

Tükürük örnekleri uyarılmış ve uyarılmamış tükürük olarak alınabilmektedir. Uyarılmış tükürükte akış miktarı artarak tükürük içeriğini dilüe ettiği için çalışmamızda uyarılmamış tükürük örnekleri toplanmıştır (267).

DOS ve tükürük içeriğindeki sitokinlerin yeterli ve güvenilir tespitini sağlaması nedeniyle ELISA yöntemi periodontolojide sıklıkla kullanılmaktadır (262, 268, 269). Çalışmamızda DOS ve tükürükte MMP-8, ALP ve ferritin seviyeleri ELISA yöntemi ile analiz edildi.

5.1. Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması

Mevcut literatür bilgilerimize göre DOS ve tükürük örneklerinde ferritin enziminin farklı periodontal durumlarda ve cerrahisiz periodontal tedavi sonrası değişimlerini inceleyen bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu açıdan çalışmamız periodontoloji literatürü açısından özgünlük taşımaktadır.

5.1.1. Ferritin bulguları

Ferritin, 1937 yılında, yeni bir protein olarak Fransız bilim adamı Laufberger tarafından at dalağında izole edilmiştir (32). Serum ferritin miktarı ancak ferritin ve anti-ferritin antikorlarının saflaştırılması ve hassas immünoanaliz tekniklerinin geliştirilmesi sayesinde belirlenmeye başlandı. Ferritin, çoğu dokuda bir sitosolik protein olarak bulunmaktadır ancak yakın zamanda da bir mitokondriyal form tanımlanmış ve nükleer lokalizasyon ve fonksiyonlarının olduğu öne sürülmüştür.

Ferritin, H ve L olarak adlandırılan iki tip alt birimden oluşan 24 alt birimli bir proteindir. H insan kalbinden izole edilen daha ağır olan isoform formunu tanımlamaktadır. L ise insan karaciğerinden izole edilmiş daha hafif olan ferritin anlamına gelir. Normalde plazmadaki düzeyi, hücre içindeki ferritin miktarı ile orantılıdır. Birleştirilmiş ferritin proteini içindeki H'nin L alt birimlerine oranı, doku tipine ve gelişim evresine bağlı olarak değişmektedir.

Hastalığı ve sağlığı ve izlemek için, toplanması invaziv olmayan, yüksek tekrarlanabilirliğe sahip, güvenli ve ucuz bir sıvı olan tükürük potansiyel bir tanı aracı olarak karşımıza çıkmaktadır. Tükürük ferritin düzeyleri periodontitis ve Tip 2 diyabetli hasta gruplarında anlamlı olarak yüksek bulunmuş olup bu artış serum ferritin seviyesi ile doğru orantılıdır. Bu sonuçlara dayanarak, tükürük ferritin seviyesinin vücut demir yükü için bir referans olarak kabul edilebileceği söylenmiştir.

Mevcut literatür bilgilerimize göre DOS ve tükürük örneklerinde ferritin enziminin farklı periodontal durumlarda ve cerrahisiz periodontal tedavi sonrası değişimlerini inceleyen bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda ferritin dos total miktarları analiz edilmiştir. Ferritin DOS total miktarları G ve P gruplarında S grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda ferritin DOS total (ng/30sn) ile Gİ, Pİ, SKİ ve SCD arasında da pozitif korelasyon bulunmuştur.

S grubundaki bireylerden alınan örneklerde de az miktar ferritin bulunmuştur. Bu durum, klinikte periodontal açıdan sağlıklı tanısı konan hastalarda bile gerçekte subklinik gingivitis tablosu olabileceğinden kaynaklanabilir. Enhoş ve ark'larının demir eksikliği anemisi olan hastalarda yaptığı çalışmada sağlıklı bireylerden alınan DOS örneklerinde de ferritin tespit ettikleri gözlenmiştir. Anemik hastalardan alınan DOS örneklerinin, tedavi sonrası düştüğünü rapor etmişlerdir. Bu düşüşün sebebini enflamasyonun çözünmesine bağlamışlardır. Anemik bireylerin DOS örneklerindeki düşüşün sağlıklı bireylere göre yüksek olmasını da subklinik enflamasyonla ilgili olduğunu söylemişlerdir (205). Kron boyu uzatması yapılacak sağlıklı bireylerden alınan diş eti örneklerinin araştırıldığı çalışmada papilla, periodontal ligament ve diş eti epitelyal hücrelerde de ferritin ekspresyonu gösterilmiştir (298).

G ve P grubunda DOS ferritin total miktarlarının S grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunması beklenen bir bulgudur. Her ne kadar sağlıklı bireylerde de ferritin salınımı gösterilmiş olsa da periodontal hastalık varlığında ferritin miktarının arttığı daha önce birçok kez gösterilmiştir (46).

G ve P gruplarında DOS ferritin total miktarları karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu durum, periodontitis grubunda örnek toplanan ceplerin bazılarında aktif enflamatuvar süreç olmamasından kaynaklanabilir.

Tükürük sağlık ve hastalık durumlarını gözlemek için potansiyel bir sıvı olarak kullanılmakta ve bu kullanım son zamanlarda artış göstermiştir. Toplanma koşullarının invaziv olmaması ve kullanım durumları ile yüksek tekrarlanabilirliği sayesinde aynı zamanda güvenli ve ucuz olması tercih edilmesine neden olmaktadır. Tükürük diş eti oluşu sıvısının yanı sıra majör ve minör tükürük bezlerinin salgılarından oluşmaktadır. İnsan tükürüğü, sistemik koşulları gösteren zengin bir biyolojik belirteç deposu olarak kabul görmektedir.

Sağlıklı ve hastalığa sahip bireyleri izlemek için potansiyel bir sıvı olarak tükürük, son yıllarda artan bir ilgi görmüştür. Toplanması invaziv değildir ve kullanımını yüksek tekrarlanabilirliğe sahiptir. Aynı zamanda güvenli ve ucuzdur. Tam tükürük, dişeti oluşu sıvısının yanı sıra majör ve minör tükürük bezlerinin salgılarından oluşur. İnsan tükürüğü, sistemik koşulları izleyen zengin bir biyolojik belirteç deposudur (45).

Ferritin tükürük değerleri açısından P grubunda diğer gruplara göre yüksektir ama istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı zamanda ferritin tükürük seviyeleri ile Gİ, Pİ ve SCD arasında da istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulunmaktadır. Guo ve ark. Yaptıkları çalışmada tükürük ferritin seviyesinin periodontitisli hastalarda daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada tip 2 diabetli hastaların tükürük örneklerinde de ferritin seviyesinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Periodontitisli tip 2 diabetli hastalarda da tükürük ferritin seviyesi yüksektir. Bu sonuçlara dayanarak, tükürük ferritini seviyesinin vücut demir yükü için bir referans olarak kabul edilebileceğini belirtmişlerdir (46).

Yakın zamanda Covid-19'lu hastaların tükürük örneklerinde yapılan çalışmada, Covid-19'a sahip bireylerin tükürüklerinde sağlıklı bireylere göre daha

yüksek ferritin seviyesi gösterilmiştir. Şiddetli Covid'e sahip bireylerde orta seviyede ki bireylere göre daha yüksek olduğu da gösterilmiştir (270).

Tedavi sonrası Ferritin bulguları

P grubuna uygulanan cerrahisiz periodontal tedavinin DOS ferritin total miktarına etkisi değerlendirildiğinde; cerrahiz tedavi sonrası 1.ayda DOS ferritin total miktarında anlamlı bir azalma olduğu görülmektedir. Cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 3. aya gelindiğinde DOS ferritin total miktarı 1.aya göre yükselmiştir fakat anlamlı fark gözlenememiştir. P grubunda cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 3. ayda Gİ ve SKİ (%) istatistiksel olarak anlamlı olmasa da hafif bir artma gerçekleşmiş olması ve periodontal dokularda 3.ayda muhtemel rekolonizasyonun başlamış olması ferritin enziminde artışa sebep olmuş olabilir. Enhoş ve ark., demir eksikliği anemisi olan hastalarda yaptıkları çalışmada DOS ferritin seviyesinin cerrahisiz periodontal tedavi ile düştüğünü göstermişlerdir (205). Chakraborty ve ark, yaptıkları çalışmada periodontitisli hastalarda cerrahi olmayan periodontal tedaviden sonra ferritin düzeylerinin düştüğünü ve tedaviden sonra aşırı demir yüklenmesi ve enflamasyon oranının düzeldiğini göstermiştir (299).

P grubuna uygulanan cerrahisiz periodontal tedavinin tükürük ferritin miktarına etkisi değerlendirildiğinde; cerrahiz tedavi sonrası 1.ayda tükürük ferritin miktarında anlamlı bir azalma olduğu görülmektedir. Tedavi sonrası 3.ay tükürük seviyelerinde bir miktar artış gözlenmiştir fakat bu değer başlangıç ve birinci ay değerleri ile benzerlik göstermiştir.

Başlangıç tükürük ferritin seviyesinin tedavi sonrasında düşmesi beklenen bir bulgudur. Literatürde periodontitisli bireylerde cerrahisiz periodontal tedavi sonrası tükürük ferritin seviyelerini değerlendiren bir çalışma yoktur.

5.1.2. ALP bulguları

ALP, fosfat esterlerinin hidrolizini katalizlemekten sorumlu metalloenzimler grubundandır ve insan dokularında çoklu izoformlar halinde bulunmaktadır (271).

Osteoblastik hücrelerin zarlarında bir glikosil-fosfatidil-inositol-bağlı ektoenzim olarak bulunurlar (272). Kesin işlevi tam olarak anlaşılamamış olsa da kemik mineralizasyonu için hücre zarında ALP gerekli olduğu gösterilmiştir(273). Ishikawa ve ark. hem kronik hem de agresif periodontitis hastalarında DOS ALP düzeylerinin sağlıklı deneklere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir(271).

ALP DOS total miktarları gruplar arası analiz edilmiştir. ALP'nin DOS total miktarları P grubunda S ve G grubuna göre yüksek bulunmuştur fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmemiştir. Sheetal Sanikop'un ALP seviyelerini periodontitis, gingivitis ve sağlıklı bireylerde araştırdığı çalışmada periodontitise sahip bireylerde ALP seviyesi, gingivitis ve sağlıklı bireylere göre yüksek bulunmuştur. Gingivitis ve sağlıklı bireyler arasında bir fark gösterilmemiştir (274).

Gingivitise sahip bireylerin dişetlerinde de ALP aktivitesi gösterilmiştir. Bu bireylerdeki ALP seviyesindeki artış, diş eti iltihabının inflamatuvar bir süreç olduğundan, konak-parazit reaksiyonu veya konak-bakteri etkileşiminin bir sonucu olarak doku değişikliğine bağlı olabileceği söylenmiştir. Hastalığın ilerlemesi sırasında, etkilenen bölgelerin periodonsiyumun ölü ve ölmekte olan hücrelerinden, PMNL'lerden, inflamatuvar, epitelyal ve bağ dokusu hücrelerinden çeşitli enzimler salgınır. PMNL'ler ALP'nin ana kaynağı olduğundan, ikincil granül salgınımı yoluyla DOS'taki ALP düzeylerinin artmasına katkıda bulunmuş olabilirler (272). *P.intermedia* ve *S.sanguis* gibi mikroorganizmaların diş eti iltihabının başlaması ve ilerlemesinde önemli olduğu düşünülmekte ve yüksek ALP aktivitesi gösterdikleri bilinmektedir (275). Bu nedenle gingivitiste ALP seviyesindeki artış, dişeti oluğundaki PML'leri ve bakteri sayısındaki artışa bağlı olabilir.

Periodontal cepler kronik inflamatuvar lezyonlardır ve sürekli olarak onarıma tabi tutulmaktadırlar. Periodontal cebin yumuşak doku duvarının durumu, yıkıcı ve onarıcı doku değişikliklerinin kompleks etkileşimine göre değişmektedir. Lokal iritanların kalıcılığı nedeniyle tam iyileşme gerçekleşmemektedir. Bu iritan maddeler sıvı ve hücrel eksüdaları uyarmaya devam etmekte ve bu da sürekli onarım çabasında bulunan yeni doku elemanlarının dejenerasyonuna neden olmaktadır. Periodontal bağ dokusuna ilk atağı takiben bir süre konak savunma mekanizması veya lokal çevredeki diğer değişiklikler sonucu lezyon remisyona girmeye başlar (276). Dişeti oluğundaki

PMNL'lerin sayısında bir artış olur ve sulkusa göç ederek periodontal lezyonların patogeneğinde hayati bir rol oynamaktadırlar (277). Çeşitli periodontopatik bakteriler arasında *P.intermedia* ve *P.gingivalis*'in yüksek ALP aktivitesine sahip olduğu ve *A.a*'nın çok düşük ALP aktivitesi gösterdiği bilinmektedir (275). Periodontitiste, kollajen kaybının mekanizmalarından biri, fibroblastların kolajen liflerini fagosite etmesidir. Fibroblast aktivitesindeki artış, toplam ALP seviyesine katkıda bulunmaktadır. Hem histokimyasal hem de biyokimyasal çalışmalar, periodontal hücrelerin gingival fibroblastlardan farklı olarak yoğun ALP aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir (278).

Ağız boşluğu, çok çeşitli işlevleri yerine getiren ve ekspozite mineralize dokulara yüksek oranda akomodasyon gösteren benzersiz bir ekosistemdir. Tükürük, serbest radikal aracılı oksidatif strese karşı ilk savunma hattı olarak kabul edilebilmektedir. Tükürük, kandan taşınan proteinler, glikoproteinler, elektrolitler, küçük organik moleküller ve bileşikler içeren heterojen bir sıvıdır. Temizleme solüsyonu, iyon rezervuarı, kayganlaştırıcı, tampon ve çok etkili bir antioksidan sistem olarak görev yapmaktadır. Giderek artan sayıdaki klinik durumlarda tanısal öneme sahiptir (279). Tükürük, tıp alanında tanı sıvısı olarak kullanılabilir. Hastalık belirteçleri olarak önerilen tükürük bileşenleri arasında enzimler (alkalen fosfataz, esteraz, glukuronidaz, aminopeptidaz), immünoglobulinler (IgA, IgG) ve hormonlar (steroid hormonlar) bulunur. Bu tükürük bileşenlerinin birçoğu, periodontal hastalığın evriminin yararlı biyokimyasal belirteçleri gibi görünmektedir (280).

Tükürük analizleri, periodontal hastalığın gelişimini izlemek için uygun maliyetli bir yaklaşım sunabilmektedirler. Periodontal hastalık aktivitesi için belirteçler olarak önerilen tükürük bileşenleri arasında aspartat aminotransferaz (AST), alkalın fosfataz, aminopeptidazlar ve glukuronidazlar bulunur (281).

ALP kesin işlevi bilinmemekle birlikte, kalsifikasyon süreci ile ilişkili spesifik olmayan bir enzimdir. Hücre plazma zarı ile ilişkili olarak bu enzimin hücre zarından hücre dışı bölgeye maddelerin taşınmasında rol oynadığı görülmektedir (282).

ALP tükürük değerleri açısından bakıldığında P grubunda S ve G grubundan istatistiksel olarak yüksek çıkmıştır. Totan ve ark, yaptıkları çalışmada periodontitis

hastalarında ALP seviyesinin sağlıklı bireylere göre yüksek olduğunu göstermişlerdir. Tükürük ALP seviyesinin periodontitisle ilişkisini araştıran az sayıda çalışma vardır. ALP seviyesinin kemiğin metabolik aktivitesinin bir göstergesi olduğu düşünüldüğünde, bu enzim periodontal hastalıkta olası bir biyokimyasal belirteç olarak kabul edilebilmektedir. Periodontitis hastalarının tükürük ALP aktivitesindeki artış, periodontal hastalığın anahtar özelliği olan alveolar kemik yıkımı ile ilişkili olabileceğini söylemişlerdir (279).

Tedavi sonrası ALP bulguları

Hücre içi enzimler, periodontal dokuların hasarlı hücrelerinden DOS ve tükürük içine aşamalı olarak salınmaktadırlar. Periodontal hastalığın erken teşhisi için değerlendirilen birkaç enzim arasında laktat dehidrojenaz, aspartat ve alanin aminotransferaz, kreatin kinaz, ALP ve gama-glutamiltransferaz bulunmaktadır. ALP, birçok molekül türünden fosfat gruplarının çıkarılmasından sorumlu bir hidrolaz enzimidir ve kemik metabolizmasının bir belirteçidir. PMNL, makrofajlar, fibroblastlar ve osteoblastlar gibi çeşitli sayıda hücre tarafından periodonsiyum ve diş eti oluşundan üretilmekte olan membrana bağlı bir glikoproteindir (52).

P grubuna uygulanan cerrahisiz periodontal tedavinin DOS ALP total miktarına etkisi değerlendirildiğinde elisa, total (*ng/30sn*) ve konsantrasyon değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir.

Son birkaç yılda yapılan çeşitli çalışmalar, periodontal hastalıkların teşhisi ve ilerlemesi ve devamlılığının izlenmesi için tükürükte çok sayıda biyobelirteç belirleme ve ölçme potansiyelini ortaya çıkarmıştır (311).

Miglani ve arkadaşları tarafından 1974'te yürütülen çalışmada, periodontal hastalık ile tükürükteki ALP seviyeleri arasındaki ilişkiyi ortaya koyulmuştur (312). Daha sonra Todoroviç ve ark., Desai ve ark., Dabra ve Singh 2012, Trivedi ve Trivedi, Ramesh ve ark. ve Luke ve ark., 2015'te yaptıkları çalışmalarda tükürükteki ALP seviyeleri ile sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli bireylerde cerrahisiz periodontal tedavi sonrası klinik parametrelerdeki ilişkiyi göstermişlerdir(313-318).

Başlangıç tükürük değerleri istatistiksel olarak birinci ve üçüncü ay değerlerinden yüksek çıkmıştır. Birinci ve üçüncü ay tükürük değerleri istatistiksel olarak benzerdir. Renganath Murugan yaptıkları çalışmada, çalışmamızla uyumlu olarak periodontitisli hastalarda hem tükürükte hem de serumda ALP düzeylerinin arttığını göstermiştir (319) Çalışma ayrıca, Dabra ve Singh tarafından 2012 yılında yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, cerrahisiz periodontal tedavinin, periodontitisli hastalarda tükürük ve serum ALP düzeylerinde önemli bir düşüş olduğunu göstermiştir (315).

5.1.3. MMP-8 bulguları

Periodontal hastalığın seyri ve tedavi sonrası iyileşmesi sırasında kollajenin parçalanması ile ilişkili doku yıkımı, remodelasyon ve doku tamiri süreçleri meydana gelmektedir. Erken gingivitis sırasında bile, sistemik dolaşımdan damar dışına çıkan enflamasyon hücrelerine yer açmak için periodonsiyumdaki kollajen lifleri parçalanmaktadır. Bu durum kronik hale geldiğinde, lezyon periodontitise ilerler ve periodontal ligamentin kollajen fibrilleri ile destekleyici alveolar kemik birlikte yıkılır. Tüm bu patolojik süreçlerdeki ve ekstrasellüler matriks remodelasyonu gibi fizyolojik süreçlerdeki doku yıkımı MMP enzimleri aracılığıyla gerçekleşmektedir (283). MMP'ler, ESM ve bazal membranın neredeyse tüm bileşenlerini parçalayabilir ve patolojik olarak aşırı aktivite göstermeleri, periodontal doku yıkımına yol açabilir (31). MMP'ler, gingival enflamasyon sırasında ESM makromoleküllerinde meydana gelen yıkımının çok büyük bir kısmından sorumlu tutulmaktadır (284). Ayrıca bu enzimler, doku inhibe edici metalloproteinazlar tarafından kontrol edilmektedirler. Gerçekte, MMP'lerin ve doku inhibe edici metalloproteinazların arasında gelişen bir dengesizliğin periodontitiste gözlenen patolojik doku yıkımına yol açtığı düşünülmektedir(285). MMP'ler ve onların doku inhibitörleri olan doku inhibe edici metalloproteinazlar periodonsiyumda lokal olarak üretilmektedir (286). MMP'ler sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri ve immün mediatörler gibi çeşitli biyoaktif hücreler arası matrix yapısı dışındaki substratları da işleyebilir, bu nedenle hem anti-

hem de proenflamatuvar süreçlere aracılık ederler (285). Bu nedenle, MMP seviyeleri yalnızca doku yıkımının işaretleri olarak değil, aynı zamanda fizyolojik veya anti-enflamatuvar savunmanın bir parçası olarak da yorumlanmalıdır (287). Geniş bir enzim ailesi olan MMP'lerin 23 tanesinin insanlarda sentez edildiği gösterilmiştir(288). Substrat özgüllüklerine göre sınıflandırıldığında kollajenaz ailesinin bir üyesi olan MMP-8 (kollajenaz-2), periodontitisin de dahil olduğu birçok enflamatuvar hastalıkta doku yıkımında önemli roller oynamaktadır(289). DOS'daki kollajenolitik aktivitenin % 90-95'i de MMP-8'den kaynaklandığı düşünülmektedir. Sorsa ve ark. İlk olarak, insanlardaki enflamasyonlu dişeti, DOS ve tükürükte kollajenolitik aktiviteyi göstermişler ve interstisyel temel kollajenazın MMP-8 olduğunu ortaya koymuştur (290).

Periodontal enflamasyon sırasındaki bakteri yüküne yanıt olarak, PMN'ler, monositler/makrofajlar enflamasyon alanlarına göç edip, sitoplazmalarındaki granüllerde bulunan MMP-8'i ortama bırakırlar. Bu hücrelerin yanı sıra sulkuler epitel hücreleri ve plazma hücrelerinin de MMP-8 kaynağı oluşturduğu bildirilmektedir(25).

Tonetti ve ark. Periodontitis hastalarının % 46'sında MMP-8 mRNA'sı göstermişlerdir (291). MMP-8 aktivitesi hem gingivisteki hem de periodontisteki enflamasyonla ilişkilendirilmiştir (284). G ve P gruplarındaki DOS MMP-8 total miktarlar seviyeleri, S grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edilememiştir. Bununla birlikte mevcut literatürde bu enzimin gingivitis ve periodontitisin ayırt edici tanısında kullanılabilmesine yönelik açık kanıtlar ortaya konamamıştır (221). Bizim çalışmamız sonucunda G ve P grupları arasında DOS MMP-8 total miktarı açısından anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Bu durumun nedeni olarak MMP-8'in, latent ve aktif formda bulunabilen karmaşık yapıda bir enzim olması düşünülmektedir. Romanelli ve ark. latent MMP-8 enziminin gingivitis, aktif MMP-8 enziminin ise periodontitis lezyonlarında bulunuyor olabileceğini ve aktif MMP-8 seviyesinin belirlenmesiyle bu iki periodontal hastalık formunun ayırt edilebileceğini belirtmektedir (284). DOS total (ng/30sn) miktar ve konsantrasyonları klinik indekslerle korelasyon göstermemiştir. G ve P grupları arasında DOS MMP-8 total miktarı ve korelasyonları açısından anlamlı fark tespit edilememesinin, MMP-8

seviyesinin total olarak (latent +aktif) analiz edilmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Golub ve Buduneli periodontitiste latent MMP-8 enzimini aktif enzim formuna dönüştüren eşsiz bir aktivasyon mekanizması olabileceğini söylemektedirler (292, 293). Kinane ve ark. MMP'lerin aktif ve latent formlarının ayırt edilememesinin bu belirtecin, gingivitisteki enflamasyon ile klinik ataşman ve kemik kaybının eşlik ettiği periodontisteki enflamasyonu ayırt etme yeteneğini etkilediğini söylemektedir (222). Bunlara ek olarak, DOS'da prepro-form, pro-form ve aktif form olmak üzere üç formda MMP-8 bulunabileceği ve bu üç formun göreceli oranlarının periodontal hastalıklar için bir tanı değeri gösterebileceği rapor edilmektedir (25).

MMP-8 tükürük miktarları açısından bakıldığında P grubunda G ve S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek çıkmıştır. Aynı zamanda MMP-8 tükürük seviyesi Gİ, Pİ, ve SCD ile pozitif korelasyon göstermiştir. MMP-8 iltihaplı dişeti, DOS ve tükürükte en fazla bulunan ve periodontal dokulardaki kollajen yapının yıkımıyla direkt ilişkilendirilen ana kollajenazdır. Enzimin aktif formu bağ dokusu yıkımı ile ilişkilendirilmiş ve uygulanan periodontal tedavilerle seviye ve aktivitelerinin baskılandığı daha önce rapor edilmiştir (295).

Tedavi sonrası MMP-8 bulguları

Cerrahisiz periodontal tedavi sonrası DOS MMP-8 total miktar seviyelerinin azaldığı çok sayıda çalışmada rapor edilmiştir (296). P grubuna uygulanan cerrahisiz periodontal tedavinin DOS'daki MMP-8 total miktar seviyesine etkisi değerlendirildiğinde; cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 1.ayda DOS MMP-8 total miktarında anlamlı bir azalma olduğu görülmektedir. Periodontal tedaviden sonra MMP-8 düzeylerinin azalması, periodontal ortamdaki bakteri yükünün azaltılmasında cerrahisiz periodontal tedavinin etkinliğini göstermektedir (297). Tedaviden sonra da fizyolojik seviyelerde bir miktar MMP-8'in kalmasının onarım veya koruyucu/savunma fazının başlangıcını yansıttığı düşünülmektedir.

Cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 3. Aya gelindiğinde DOS MMP-8 total miktarı 1.ayla benzer seviyelerde kaldığı gözlenmiştir. P grubunda cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 3. Ayda Gİ, SKİ(%) ve DOS haciminde istatistiksel olarak

anlamli olmasa da hafif bir artma gercekleşmiş olması ve başlangıç periodontal tedavinin hasta tarafından idamesinin gercekleştğini düşünmemize neden olmuştur.

P grubuna uygulanan cerrahisiz periodontal tedavinin tükürükteki MMP-8 seviyesine etkisi değerlendirildiğinde; cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 1.ayda tükürük MMP-8 seviyesinde anlamlı bir azalma olduğu görülmektedir. Bu azalma 3.ayda da benzer seviyelerde kalmaya devam etmiştir. Cerrahisiz periodontal tedavi sonrası tükürük MMP-8 seviyelerinin azaldığı bir çok çalışmada rapor edilmiştir (300).

Periodontal hastalık gruplarındaki DOS örneklerinde K grubuna göre yüksek seviyede MMP-8 tespit edilmiş olması ve MMP-8 DOS total miktarlarının çalışma genelindeki klinik enflamasyon belirteçleriyle çok güçlü pozitif korelasyon gösteriyor olması, enflamasyonlu alanlarda immün sistem hücrelerinin varlığıyla açıklanabilir.

Çalışmamızın başlangıcında MMP-8'in aktif formunu analiz etmeyi hedeflemiştik. Yalnız gerek seyahatsal kısıtlamalar, gerekse laboratuvar aşamasındaki zorluklar sebebiyle MMP-8'in normal formunu araştırmak zorunda kalmamız çalışmamızın limitasyonu olmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1) Periodontal olarak sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli bireylerden alınan DOS ve tükürük örneklerindeki ferritin, ALP ve MMP-8 seviyeleri değerlendirildi. Bu değerlerin klinik parametrelerle ilişkileri ortaya kondu.
- 2) P ve G grubunda Gİ, SKİ (%) ve Pİ değerleri anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. P grubunda Gİ değeri G grubundan anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. P grubunun SCD değerleri istatistiksel olarak S ve G gruplarından yüksektir.
- 3) DOS hacim değerleri P grubunda S ve G gruplarına göre istatistiksel olarak farklıdır.
- 4) Ferritin total değerleri P ve G grubunda S grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Grupların konsantrasyon ve tükürük değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.
- 5) MMP-8 total ve konsantrasyon değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Tükürük değerleri S ve G gruplarında istatistiksel olarak benzer olmakla birlikte P grubu tükürük değerleri istatistiksel olarak S ve G gruplarından yüksek bulunmuştur.
- 6) ALP, P grubunun elisa tükürük değerleri istatistiksel olarak S ve G gruplarından yüksek bulunmuştur. S ve G gruplarının elisa tükürük değerleri istatistiksel olarak benzer bulunmuştur. Total ve konsantrasyon değerleri gruplarda istatistiksel olarak benzer dağılım göstermektedir.
- 7) Periodontitisli grupta cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 1.ay Gİ, Pİ, SKİ (%) SCD ve DOS hacim değerlerinin hepsinde istatistiksel olarak düzelme görülmüştür. Pİ, SCD ve DOS hacim 3.ay değerleri 1.ay değerlerine benzerlik gösterdiği bulunmuştur.
- 8) Periodontitisli grupta cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 1.ay ferritin total değerleri istatistiksel olarak azalmıştır. 1.ay ve 3.ay değerleri istatistiksel olarak benzerdir. Başlangıç tükürük değerleri istatistiksel olarak birinci ay değerinden yüksek olup, 3.ay değerleri başlangıç ve 1.ay değerleri ile benzer bulunmuştur.

- 9) Periodontitisli grupta cerrahisiz periodontal tedavi sonrası MMP-8 total ve tükürük değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır.
- 10) Periodontitisli grupta cerrahisiz periodontal tedavi sonrası başlangıç ALP total ve konsantrasyon değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.



KAYNAKLAR

1. Adams D. The American Academy of Periodontology. *Journal of periodontology*. 1996;67(2):177-9.
2. Brown LJ, LÖE H. Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontology 2000*. 1993;2(1):57-71.
3. Greenstein G. Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. *Journal of the American Dental Association (1939)*. 2000;131(11):1580-92.
4. Tatakis DN, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. *Journal of clinical periodontology*. 2004;31(4):229-38.
5. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. *Carranza's clinical periodontology*: Elsevier health sciences; 2011.
6. Goodson JM, Tanner AC, Haffajee AD, Sornberger GC, Socransky SS. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1982;9(6):472-81.
7. Amano A. Host-parasite interactions in periodontitis: microbial pathogenicity and innate immunity. *Periodontol 2000*. 2010;54(1):9-14.
8. Loe H, Theilade E, Jensen SB. EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN MAN. *The Journal of periodontology*. 1965;36:177-87.
9. Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clinical microbiology reviews*. 2001;14(4):727-52, table of contents.
10. Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:210-3.
11. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*. 1997;14:9-11.
12. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals of periodontology*. 1996;1(1):821-78.
13. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25(2):134-44.

14. Preshaw PM, Hefti AF, Jepsen S, Etienne D, Walker C, Bradshaw MH. Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis. A review. *J Clin Periodontol.* 2004;31(9):697-707.
15. Prabhu A, Michalowicz BS, Mathur A. Detection of local and systemic cytokines in adult periodontitis. *The Journal of periodontology.* 1996;67(5):515-22.
16. Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2003;30(12):1046-52.
17. Herminajeng E, Sosroseno W, Bird PS, Seymour GJ. The effects of interleukin-10 depletion in vivo on the immune response to *Porphyromonas gingivalis* in a murine model. *The Journal of periodontology.* 2001;72(11):1527-34.
18. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *The Journal of periodontology.* 2008;79(8 Suppl):1569-76.
19. Makela M, Salo T, Uitto VJ, Larjava H. Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity: cellular origin and relationship to periodontal status. *Journal of dental research.* 1994;73(8):1397-406.
20. Konttinen YT, Ainola M, Valleala H, Ma J, Ida H, Mandelin J, et al. Analysis of 16 different matrix metalloproteinases (MMP-1 to MMP-20) in the synovial membrane: different profiles in trauma and rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases.* 1999;58(11):691-7.
21. Hatipoğlu H. Dişeti Oluşu Sıvısı (DOS) Elde Etme Sürecine Etki Eden Potansiyel Faktörler. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi.* 2010;31(2):69-81.
22. Konttinen YT, Ainola M, Valleala H, Ma J, Ida H, Mandelin J, et al. Analysis of 16 different matrix metalloproteinases (MMP-1 to MMP-20) in the synovial membrane: different profiles in trauma and rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases.* 1999;58(11):691-7.
23. Sorsa T, Gursoy UK, Nwhator S, Hernandez M, Tervahartiala T, Leppilahti J, et al. Analysis of matrix metalloproteinases, especially MMP-8, in gingival crevicular fluid, mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases. *Periodontology 2000.* 2016;70(1):142-63.
24. . !!! INVALID CITATION !!!
25. Kiili M, Cox S, Chen H, Wahlgren J, Maisi P, Eley B, et al. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *Journal of clinical periodontology.* 2002;29(3):224-32.
26. Westerlund U, Ingman T, Lukinmaa P-L, Salo T, Kjeldsen L, Borregaard N, et al. Human neutrophil gelatinase and associated lipocalin in adult and localized juvenile periodontitis. *Journal of dental research.* 1996;75(8):1553-63.
27. Teronen O, Konttinen YT, Lindqvist C, Salo T, Ingman T, Lauhio A, et al. Human neutrophil collagenase MMP-8 in peri-implant sulcus fluid and its inhibition by clodronate. *Journal of dental research.* 1997;76(9):1529-37.

28. Leppilahti JM, Sorsa T, Kallio MA, Tervahartiala T, Emingil G, Han B, et al. The utility of gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 response patterns in prediction of site-level clinical treatment outcome. *Journal of Periodontology*. 2015;86(6):777-87.
29. Nomura T, Ishii A, Shimizu H, Taguchi N, Yoshie H, Kusakari H, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1, matrix metalloproteinases-1 and-8, and collagenase activity levels in peri-implant crevicular fluid after implantation. *Clinical oral implants research*. 2000;11(5):430-40.
30. Overall CM, Sodek J, McCulloch C, Birek P. Evidence for polymorphonuclear leukocyte collagenase and 92-kilodalton gelatinase in gingival crevicular fluid. *Infection and immunity*. 1991;59(12):4687-92.
31. Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Annals of medicine*. 2006;38(5):306-21.
32. Laufberger V. Sur la cristallisation de la ferritine. *Soc Chim Biol*. 1937;19:1575-82.
33. Addison G, Beamish M, Hales C, Hodgkins M, Jacobs A, Llewellyn P. An immunoradiometric assay for ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. *Journal of Clinical Pathology*. 1972;25(4):326-9.
34. Jacobs A, Miller F, Worwood M, Beamish M, Wardrop C. Ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. *Br med J*. 1972;4(5834):206-8.
35. Jacobs A, Worwood M. Ferritin in serum: clinical and biochemical implications. *New England Journal of Medicine*. 1975;292(18):951-6.
36. Surguladze N, Patton S, Cozzi A, Fried MG, Connor JR. Characterization of nuclear ferritin and mechanism of translocation. *Biochemical Journal*. 2005;388(3):731-40.
37. Torti FM, Torti SV. Regulation of ferritin genes and protein. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2002;99(10):3505-16.
38. Worwood M, Brook J, Cragg S, Hellkuhl B, Jones B, Perera P, et al. Assignment of human ferritin genes to chromosomes 11 and 19q13. 3→ 19qter. *Human genetics*. 1985;69(4):371-4.
39. Lebo R, Kan Y, Cheung M-C, Jain S, Drysdale J. Human ferritin light chain gene sequences mapped to several sorted chromosomes. *Human genetics*. 1985;71(4):325-8.
40. Orino K, Watanabe K. Molecular, physiological and clinical aspects of the iron storage protein ferritin. *The Veterinary Journal*. 2008;178(2):191-201.
41. Wesselius LJ, Nelson ME, Skikne BS. Increased release of ferritin and iron by iron-loaded alveolar macrophages in cigarette smokers. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1994;150(3):690-5.
42. Ghosh S, Hevi S, Chuck SL. Regulated secretion of glycosylated human ferritin from hepatocytes. *Blood*. 2004;103(6):2369-76.

43. Tran TN, Eubanks SK, Schaffer KJ, Zhou CY, Linder MC. Secretion of ferritin by rat hepatoma cells and its regulation by inflammatory cytokines and iron. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 1997;90(12):4979-86.
44. Yeap BB, Divitini ML, Gunton JE, Olynyk JK, Beilby JP, McQuillan B, et al. Higher ferritin levels, but not serum iron or transferrin saturation, are associated with Type 2 diabetes mellitus in adult men and women free of genetic haemochromatosis. *Clinical endocrinology*. 2015;82(4):525-32.
45. Wang Q, Yu Q, Lin Q, Duan Y. Emerging salivary biomarkers by mass spectrometry. *Clinica chimica acta*. 2015;438:214-21.
46. Guo L-N, Yang Y-Z, Feng Y-Z. Serum and salivary ferritin and Hepsidin levels in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *BMC oral health*. 2018;18(1):63.
47. Farley J, Chesnut C, Baylink D. Improved method for quantitative determination in serum of alkaline phosphatase of skeletal origin. *Clinical chemistry*. 1981;27(12):2002-7.
48. Steel HM, Booth JC, Tryhorn YS, Stern H. A simple immunoalkaline phosphatase method for the rapid diagnosis of cytomegalovirus (CMV) infection. *Serodiagnosis and immunotherapy in infectious disease*. 1988;2(3):193-200.
49. Demir Y, Demir N, Yildirim S, Nadaroğlu H, Karaosmanoğlu M, Bakan E. The activities of carbonic anhydrase and alkaline phosphatase in ancient human bones. Purification and characterization of outer peripheral, cytosolic, inner peripheral, and integral CA. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. 2001;31(3):291-304.
50. Uzunoğlu N. PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF ALKALINE PHOSPHATASE. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1998;18(2):69.
51. Kuftinec M, Miller S. Alkaline and acid phosphatase activities during growth of long bones and mandibles. *Calcified tissue research*. 1972;9(1):173-8.
52. Plagnat D, Giannopoulou C, Carrel A, Bernard JP, Mombelli A, Belser UC. Elastase, α 2-macroglobulin and alkaline phosphatase in crevicular fluid from implants with and without periimplantitis. *Clinical oral implants research*. 2002;13(3):227-33.
53. Gilbert G, Knight J, Vance C, Allan D. Acid phosphatase activity in phosphorus-deficient white lupin roots. *Plant, Cell & Environment*. 1999;22(7):801-10.
54. Perinetti G, Paolantonio M, D'Attilio M, D'Archivio D, Tripodi D, Femminella B, et al. Alkaline phosphatase activity in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2002;122(5):548-56.
55. Hornberg JJ, Bruggeman FJ, Binder B, Geest CR, De Vaate AMB, Lankelma J, et al. Principles behind the multifarious control of signal transduction: ERK phosphorylation and kinase/phosphatase control. *The FEBS journal*. 2005;272(1):244-58.
56. Nakashima K, Roehrich N, Cimasoni G. Osteocalcin, prostaglandin E2 and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid: their relations to periodontal status. *Journal of clinical periodontology*. 1994;21(5):327-33.

57. Lindhe J, Lang P. och Karring T., *Clinical Periodontology and Implant dentistry Volume 1: Basic concept*. Singapore; 2008.
58. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *Journal of periodontology*. 1992;63:322-31.
59. Sahingur SE, Cohen RE. Analysis of host responses and risk for disease progression. *Periodontology 2000*. 2004;34(1):57-83.
60. Kinane DF, Preshaw PM, Loos BG, *Periodontology WGotSEWo*. Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions—consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *Journal of clinical periodontology*. 2011;38:44-8.
61. Löe H, Theilade E, Jensen SB, Schiøtt CR. Experimental gingivitis in man. *Journal of periodontal research*. 1967;2(4):282-9.
62. Weijden G, Timmerman M, Danser M, Nijboer A, Saxton C, Velden U, et al. Effect of pre-experimental maintenance care duration on the development of gingivitis in a partial mouth experimental gingivitis model. *Journal of periodontal research*. 1994;29(3):168-73.
63. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2001;25(1):8-20.
64. Amabile N, Susini G, Pettenati-Soubayroux I, Bonello L, Gil JM, Arques S, et al. Severity of periodontal disease correlates to inflammatory systemic status and independently predicts the presence and angiographic extent of stable coronary artery disease. *Journal of internal medicine*. 2008;263(6):644-52.
65. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontology 2000*. 2006;42(1):80-7.
66. Vitkov L, Klappacher M, Hannig M, Krautgartner W. Extracellular neutrophil traps in periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2009;44(5):664-72.
67. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology*. 1999;4(1):1-6.
68. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple IL, 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. *Journal of periodontology*. 2018;89:S1-S8.
69. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *Journal of periodontology*. 2018;89:S9-S16.
70. Chapple IL, 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. *Journal of periodontology*. 2018;89:S74-S84.
71. Huang S, Li Z, He T, Bo C, Chang J, Li L, et al. Microbiota-based signature of gingivitis treatments: a randomized study. *Scientific reports*. 2016;6(1):1-9.

72. Amano A. Host–parasite interactions in periodontitis: microbial pathogenicity and innate immunity. *Periodontology 2000*. 2010;54(1):9-14.
73. Tanner A, Kent R, Maiden M, Taubman M. Clinical, microbiological and immunological profile of healthy, gingivitis and putative active periodontal subjects. *Journal of periodontal research*. 1996;31(3):195-204.
74. Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry* 2008.
75. Haraszthy VI, Zambon JJ, Sreenivasan PK. The antimicrobial efficacy of commercial dentifrices. *Gen Dent*. 2010;58(1):50-5.
76. Sheiham A. Is the chemical prevention of gingivitis necessary to prevent severe periodontitis? *Periodontology 2000*. 1997;15:15-24.
77. Trombelli L, Scapoli C, Orlandini E, Tosi M, Bottega S, Tatakis DN. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: III. Response of “high responders” and “low responders” to therapy. *Journal of clinical periodontology*. 2004;31(4):253-9.
78. Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *Journal of periodontology*. 1965;36(3):177-87.
79. Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of periodontology*. 1991;62(2):123-31.
80. Monteiro da Silva A, Oakley D, Newman H, Nohl F, Lloyd H. Psychosocial factors and adult onset rapidly progressive periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 1996;23(8):789-94.
81. Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 1996;67:1041-9.
82. Vettore M, Leao A, Monteiro Da Silva A, Quintanilha R, Lamarca G. The relationship of stress and anxiety with chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2003;30(5):394-402.
83. Greenstein G. Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. *The Journal of the American Dental Association*. 2000;131(11):1580-92.
84. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century—the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dentistry and oral epidemiology*. 2003;31:3-24.
85. Sandberg GE, Sundberg HE, Fjellstrom CA, Wikblad KF. Type 2 diabetes and oral health: a comparison between diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetes research and clinical practice*. 2000;50(1):27-34.
86. Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontology 2000*. 2003;31(1):167-80.
87. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *The lancet*. 2005;366(9499):1809-20.

88. Amano A, Kishima T, Akiyama S, Nakagawa I, Hamada S, Morisaki I. Relationship of periodontopathic bacteria with early-onset periodontitis in Down's syndrome. *Journal of periodontology*. 2001;72(3):368-73.
89. Riley C, London JP, Burmeister JA. Periodontal health in 200 HIV-positive patients. *Journal of oral pathology & medicine*. 1992;21(3):124-7.
90. Zambon JJ, Reynolds HS, Genco RJ. Studies of the subgingival microflora in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Journal of periodontology*. 1990;61(11):699-704.
91. Johnson N, Griffiths G, Wilton J, Maiden M, Curtis M, Gillett I, et al. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases: Evidence for the existence of high-risk groups and individuals and approaches to their detection. *Journal of Clinical Periodontology*. 1988;15(5):276-82.
92. Levine S. Chronic familial neutropenia, with marked periodontal lesions: report of a case. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1959;12(3):310-4.
93. Bolin A, Lavstedt S, Frithiof L, Henrikson CO. Proximal alveolar bone loss in a longitudinal radiographic investigation: IV. smoking and some other factors influencing the progress in individuals with at least 20 remaining teeth. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1986;44(5):263-9.
94. Gonzales JR. T-and B-cell subsets in periodontitis. *Periodontology 2000*. 2015;69(1):181-200.
95. Machtei EE, Dunford R, Hausmann E, Grossi SG, Powell J, Cummins D, et al. Longitudinal study of prognostic factors in established periodontitis patients. *Journal of clinical periodontology*. 1997;24(2):102-9.
96. Croucher R, Marcenes WS, Torres MCM, Hughes F, Sheiham A. The relationship between life-events and periodontitis A case-control study. *Journal of clinical periodontology*. 1997;24(1):39-43.
97. Nishida M, Grossi SG, Dunford RG, Ho AW, Trevisan M, Genco RJ. Dietary vitamin C and the risk for periodontal disease. *Journal of periodontology*. 2000;71(8):1215-23.
98. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*. 2018;89:S173-S82.
99. Flemmig TF. Periodontitis. *Annals of Periodontology*. 1999;4(1):32-7.
100. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*. 1997;14(1):9-11.
101. Williams RC. Periodontal disease. *New England Journal of Medicine*. 1990;322(6):373-82.
102. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of periodontology*. 2018;89:S159-S72.
103. Tonetti MS, Mombelli A. Early-onset periodontitis. *Annals of Periodontology*. 1999;4(1):39-52.
104. Papapanou PN, Wennström JL, Gröndahl K. A 10-year retrospective study of periodontal disease progression. *Journal of clinical periodontology*. 1989;16(7):403-11.

105. Papapanou PN. Patterns of alveolar bone loss in the assessment of periodontal treatment priorities. *Swedish dental journal Supplement*. 1989;66:1-45.
106. Lang NP, Tonetti MS. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health Prev Dent*. 2003;1(1):7-16.
107. Tonetti MS. Cigarette smoking and periodontal diseases: etiology and management of disease. *Annals of Periodontology*. 1998;3(1):88-101.
108. Billings M, Holtfreter B, Papapanou PN, Mitnik GL, Kocher T, Dye BA. Age-dependent distribution of periodontitis in two countries: Findings from NHANES 2009 to 2014 and SHIP-TREND 2008 to 2012. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45:S130-S48.
109. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000*. 2002;28(1):12-55.
110. 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.
111. Nield-Gehrig JS, Willmann D. Dental plaque biofilms. *Journal of Practical Hygiene*. 2005;14(16):1-6.
112. Teughels W, Godts C, Quirynen M, Jakubovics N. *Biofilm and periodontal microbiology*. Carranza's Clinical Periodontology 12th ed St Louis: Elsevier Inc. 2015:132-69.
113. Listgarten MA. The structure of dental plaque. *Periodontology 2000*. 1994;5(1):52-65.
114. Nolte W. Oral ecology. *Oral microbiology*. 1968.
115. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(11):5721-32.
116. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Advances in dental research*. 1994;8(2):263-71.
117. Marsh P. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries research*. 2004;38(3):204-11.
118. Nield-Gehrig J. Dental Plaque Biofilms. *Foundations of Periodontics for the Dental Hygienist*. 2003. Lippincott Williams & Wilkins (<http://www.lww.com/>).
119. Kolenbrander PE, Palmer Jr RJ, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology 2000*. 2006;42(1):47-79.
120. Gilbert P, Allison D, McBain A. Biofilms in vitro and in vivo: do singular mechanisms imply cross-resistance? *Journal of Applied Microbiology*. 2002;92:98S-110S.
121. Kuboniwa M, Lamont RJ. Subgingival biofilm formation. *Periodontology 2000*. 2010;52(1):38-52.
122. Yao E, Lament R, Leu S, Weinberg A. Interbacterial binding among strains of pathogenic and commensal oral bacterial species. *Oral microbiology and immunology*. 1996;11(1):35-41.

123. Nagayama M, Sato M, Yamaguchi R, Tokuda C, Takeuchi H. Evaluation of co-aggregation among *Streptococcus mitis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*. *Letters in applied microbiology*. 2001;33(2):122-5.
124. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annual review of microbiology*. 1995;49(1):711-45.
125. Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I, Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine'peri-implant pockets. *Clinical oral implants research*. 2006;17(1):25-37.
126. Sbordone L, Bortolaia C. Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. *Clinical oral investigations*. 2003;7(4):181-8.
127. Mombelli A, Cionca N, Almaghlouth A. Does adjunctive antimicrobial therapy reduce the perceived need for periodontal surgery? *Periodontology 2000*. 2011;55(1):205-16.
128. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*. 1979;6(5):351-82.
129. Zambon JJ. Periodontal diseases: microbial factors. *Annals of periodontology*. 1996;1(1):879-925.
130. Armitage GC, Cullinan MP, Seymour GJ. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis: introduction. *Periodontology 2000*. 2010;53(1):7-11.
131. Newman M, Takei H, Klokkevold P, Carranza F. Microbial interactions with the host in periodontal disease. *Carranza's Clinical Periodontology*. 2006;10:234-5.
132. Genco RJ. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *Journal of periodontology*. 1992;63:338-55.
133. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskin MA, et al. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell host & microbe*. 2011;10(5):497-506.
134. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nature Reviews Microbiology*. 2012;10(10):717-25.
135. Rosier BT, De Jager M, Zaura E, Krom BP. Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases: are we there yet? *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2014;4:92.
136. Carpenter S, O'Neill LA. How important are Toll-like receptors for antimicrobial responses? *Cellular microbiology*. 2007;9(8):1891-901.
137. Shimazu R, Akashi S, Ogata H, Nagai Y, Fukudome K, Miyake K, et al. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *The Journal of experimental medicine*. 1999;189(11):1777-82.

138. Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annual review of immunology*. 1991;9(1):271-96.
139. Rescigno M, Granucci F, Ricciardi-Castagnoli P. Molecular events of bacterial-induced maturation of dendritic cells. *Journal of clinical immunology*. 2000;20(3):161-6.
140. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology 2000*. 1999;20(1):168-238.
141. Schwandner R, Dziarski R, Wesche H, Rothe M, Kirschning CJ. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(25):17406-9.
142. Darveau RP, Pham T-TT, Lemley K, Reife RA, Bainbridge BW, Coats SR, et al. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide contains multiple lipid A species that functionally interact with both toll-like receptors 2 and 4. *Infection and immunity*. 2004;72(9):5041-51.
143. Asai Y, Ohyama Y, Gen K, Ogawa T. Bacterial fimbriae and their peptides activate human gingival epithelial cells through Toll-like receptor 2. *Infection and immunity*. 2001;69(12):7387-95.
144. Niederman R, Brunkhorst B, Smith S, Weinreb R, Ryder M. Ammonia as a potential mediator of adult human periodontal infection: inhibition of neutrophil function. *Archives of oral biology*. 1990;35:S205-S9.
145. Gorbach SL, Mayhew JW, Bartlett J, Thadepalli H, ONDERDONK AB. Rapid diagnosis of anaerobic infections by direct gas-liquid chromatography of clinical specimens. *The Journal of clinical investigation*. 1976;57(2):478-84.
146. Naleway C. Assessment of the potential relationship between levels of SCFA found in subgingival plaque and periodontal health. *J Dent Res*. 1989;68:121.
147. Kurita-Ochiai T, Seto S, Suzuki N, Yamamoto M, Otsuka K, Abe K, et al. Butyric acid induces apoptosis in inflamed fibroblasts. *Journal of dental research*. 2008;87(1):51-5.
148. Singer RE, Buckner BA. Butyrate and propionate: important components of toxic dental plaque extracts. *Infection and immunity*. 1981;32(2):458-63.
149. Kurita-Ochiai T, Fukushima K, Ochiai K. Volatile fatty acids, metabolic by-products of periodontopathic bacteria, inhibit lymphocyte proliferation and cytokine production. *Journal of dental research*. 1995;74(7):1367-73.
150. Tonetti M, Eftimiadi C, Damiani G, Buffa P, Buffa D, Botta G. Short chain fatty acids present in periodontal pockets may play a role in human periodontal diseases. *Journal of periodontal research*. 1987;22(3):190-1.
151. Zhang J. Gingival inflammation induced by food and short chain carboxylic acids. DMSc thesis. 1996.
152. Bostanci N, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS microbiology letters*. 2012;333(1):1-9.

153. Hosn KN, Jefferson MM, Leding C, Shokouh-Amiri S, Thomas EL. Inhibitors of bacterial protease enzymes for periodontal therapy. *Clinical and experimental dental research*. 2015;1(1):18-25.
154. Pike R, McGraw W, Potempa J, Travis J. Lysine-and arginine-specific proteinases from *Porphyromonas gingivalis*. Isolation, characterization, and evidence for the existence of complexes with hemagglutinins. *Journal of Biological Chemistry*. 1994;269(1):406-11.
155. Potempa J, Pike RN. Corruption of innate immunity by bacterial proteases. *Journal of innate immunity*. 2009;1(2):70-87.
156. Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontology 2000*. 1999;20(1):136-67.
157. Tribble GD, Lamont RJ. Bacterial invasion of epithelial cells and spreading in periodontal tissue. *Periodontology 2000*. 2010;52(1):68-83.
158. Saglie R, Newman M, Carranza Jr F, Pattison G. Bacterial invasion of gingiva in advanced periodontitis in humans. *Journal of periodontology*. 1982;53(4):217-22.
159. Christersson LA, Albini B, Zambon JJ, Wikesjö UM, Genco RJ. Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis: I. Light, immunofluorescence and electron microscopic studies. *Journal of periodontology*. 1987;58(8):529-39.
160. Fives-Taylor P, Meyer D, Mintz K. Virulence factors of the periodontopathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of periodontology*. 1996;67:291-7.
161. Edwards AM, Grossman TJ, Rudney JD. *Fusobacterium nucleatum* transports noninvasive *Streptococcus cristatus* into human epithelial cells. *Infection and immunity*. 2006;74(1):654-62.
162. Fleischer HC, Mellonig JT, Brayer WK, Gray JL, Barnett JD. Scaling and root planing efficacy in multirooted teeth. *Journal of periodontology*. 1989;60(7):402-9.
163. Brayer WK, Mellonig JT, Dunlap RM, Marinak KW, Carson RE. Scaling and root planing effectiveness: the effect of root surface access and operator experience. *Journal of periodontology*. 1989;60(1):67-72.
164. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontologica Scandinavica*. 2001;59(3):167-73.
165. Ebersole JL, Dawson III D, Emecen-Huja P, Nagarajan R, Howard K, Grady ME, et al. The periodontal war: microbes and immunity. *Periodontology 2000*. 2017;75(1):52-115.
166. Lamster IB, Novak MJ. Host mediators in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1992;3(1):31-60.
167. Fraser ID, Germain RN. Navigating the network: signaling cross-talk in hematopoietic cells. *Nature immunology*. 2009;10(4):327.
168. Van Dyke TE, Kornman KS. Inflammation and factors that may regulate inflammatory response. *Journal of periodontology*. 2008;79:1503-7.
169. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and molecular immunology* 6th edition. 2007.

170. Azuma M. Fundamental mechanisms of host immune responses to infection. *Journal of periodontal research*. 2006;41(5):361-73.
171. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontology 2000*. 2007;43(1):14-40.
172. Kenneth M, Travers P, Walport M. Innate immunity: the first lines of defense. *Janeway's Immunobiol*. 2011:37-73.
173. Fujita T. Evolution of the lectin–complement pathway and its role in innate immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2002;2(5):346-53.
174. Haake S, Nisengard R, Newman M, Miyasaki K. Microbial interactions with the host in periodontal diseases. *Carranza's clinical periodontology Philadelphia: WB Saunders Co*. 2002:132-52.
175. Fujita T, Endo Y, Nonaka M. Primitive complement system—recognition and activation. *Molecular immunology*. 2004;41(2-3):103-11.
176. Seymour GJ, Taylor JJ. Shouts and whispers: an introduction to immunoregulation in periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2004;35(1):9-13.
177. Novak MJ, Novak KF. Chronic periodontitis. Newman M, Takei H, Klokkevold R Carranzas *Clinical Periodontology 9th ed Philadelphia: WB Saunders Co*. 2006:134-5.
178. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1976;34(3):235-49.
179. Payne W, Page RC, Ogilvie A, Hall W. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *Journal of periodontal research*. 1975;10(2):51-64.
180. Pisetsky DS. *The LE cell: crime scene or crime stopper?* : Springer; 2012.
181. Holthuis A, Gelskey S, Chebib F. The relationship between gingival tissue temperatures and various indicators of gingival inflammation. *Journal of periodontology*. 1981;52(4):187-9.
182. Dixon DR, Bainbridge BW, Darveau RP. Modulation of the innate immune response within the periodontium. *Periodontology 2000*. 2004;35(1):53-74.
183. Schroeder H, Graf-de Beer M, Attström R. Initial gingivitis in dogs. *Journal of periodontal research*. 1975;10(3):128-42.
184. Pischon N, Pischon T, Kröger J, Gülmez E, Kleber BM, Bernimoulin JP, et al. Association among rheumatoid arthritis, oral hygiene, and periodontitis. *Journal of periodontology*. 2008;79(6):979-86.
185. Steinberg BE, Grinstein S. Unconventional roles of the NADPH oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death. *Sci STKE*. 2007;2007(379):pe11-pe.
186. Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *The Journal of periodontology*. 1965;36(3):177-87.
187. Lindhe J, Hamp SE, Löe H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *Journal of Periodontal Research*. 1973;8(1):1-10.

188. Seymour G, Powell R, Aitken J. Experimental gingivitis in humans: a clinical and histologic investigation. *Journal of periodontology*. 1983;54(9):522-8.
189. Listgarten M, Hellden L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *Journal of clinical periodontology*. 1978;5(2):115-32.
190. Hanioka T, Shizukuishi S, Tsunemitsu A. Changes in hemoglobin concentration and oxygen saturation in human gingiva with decreasing inflammation. *Journal of periodontology*. 1991;62(6):366-9.
191. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology 2000*. 1997;14(1):112-43.
192. Reynolds JJ, Meikle MC. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontology 2000*. 1997;14(1):144-57.
193. Müller-Glauser W, Schroeder H. The pocket epithelium: A light-and electronmicroscopic study. *Journal of periodontology*. 1982;53(3):133-44.
194. Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dental Clinics*. 2005;49(3):491-516.
195. Hajishengallis G, Korostoff JM. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. *Periodontology 2000*. 2017;75(1):116-51.
196. Ara T, Kurata K, Hirai K, Uchihashi T, Uematsu T, Imamura Y, et al. Human gingival fibroblasts are critical in sustaining inflammation in periodontal disease. *Journal of periodontal research*. 2009;44(1):21-7.
197. Zekeridou A, Giannopoulou C, Cancela J, Courvoisier D, Mombelli A. Effect of initial periodontal therapy on gingival crevicular fluid cytokine profile in subjects with chronic periodontitis. *Clinical and experimental dental research*. 2017;3(2):62-8.
198. GÜNER İ, ÖZMEN D, BAYINDIR O. Sitokinler. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1997;17(2):65-74.
199. Leonard W. Type 1 cytokines and interferons and their receptors. *Fundamental immunology*. 2003.
200. Graves DT, Fine D, Teng YTA, Van Dyke TE, Hajishengallis G. The use of rodent models to investigate host–bacteria interactions related to periodontal diseases. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35(2):89-105.
201. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118(2):503-8.
202. Takashiba S, Naruishi K, Murayama Y. Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. *Journal of periodontology*. 2003;74(1):103-10.
203. Palosaari H, Wahlgren J, Larmas M, Rönkä H, Sorsa T, Salo T, et al. The expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is down-regulated by TGF- β 1. *Journal of dental research*. 2000;79(1):77-84.

204. Perinetti G, Paolantonio M, Femminella B, Serra E, Spoto G. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase activity reflects periodontal healing/recurrent inflammation phases in chronic periodontitis patients. *Journal of periodontology*. 2008;79(7):1200-7.
205. Enhos S, Duran I, Erdem S, Buyukbas S. Relationship between iron-deficiency anemia and periodontal status in female patients. *Journal of periodontology*. 2009;80(11):1750-5.
206. Cimasoni G. The crevicular fluid. *Monographs in oral science*. 1974;3:1-122.
207. Weinstein EM ID, Salkind A, Oshrain HI, Pappas GD. Studies of Gingival Fluid. *Periodontics*. 1967;5:161-6.
208. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology 2000*. 2016;70(1):53-64.
209. Brill N. Influence of capillary permeability on flow of tissue fluid into gingival pockets. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1959;17(1):23-33.
210. Brill N. Removal of particles and bacteria from gingival pockets by tissue fluid. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1959;17(4):431-40.
211. Brill N. Effect of chewing on flow of tissue fluid into human gingival pockets. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1959;17(3):277-84.
212. Pashley D. A mechanistic analysis of gingival fluid production. *Journal of Periodontal Research*. 1976;11(2):121-34.
213. CIMASONI G. Crevicular fluid updated. *Monographs in Oral. Science*. 1983;12.
214. Borden S, Golub L, Kleinberg I. The effect of age and sex on the relationship between crevicular fluid flow and gingival inflammation in humans. *Journal of periodontal research*. 1977;12(3):160-5.
215. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontology 2000*. 2003;31(1):43-54.
216. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*. 2003;31(1):77-104.
217. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*. 2003;31(1):32-42.
218. Bass BD, Andors L, Pierri LK, Pollock JJ. Quantitation of hepatitis B viral markers in a dental school population. *The Journal of the American Dental Association*. 1982;104(5):629-32.
219. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*. 2003;31(1):55-76.
220. Giannobile WV, Riviere GR, Gorski JP, Tira DE, Cobb CM. Glycosaminoglycans and periodontal disease: analysis of GCF by safranin O. *Journal of periodontology*. 1993;64(3):186-90.
221. Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontology 2000*. 2005;39(1):53-72.

222. Kinane D, Darby I, Said S, Luoto H, Sorsa T, Tikanoja S, et al. Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *Journal of periodontal research*. 2003;38(4):400-4.
223. Golub L, Ryan M, Williams R. Modulation of the host response in the treatment of periodontitis. *Dentistry today*. 1998;17(10):102-6, 8.
224. Nakashima K, Giannopoulou C, Andersen E, Roehrich N, Brochut P, Dubrez B, et al. A longitudinal study of various crevicular fluid components as markers of periodontal disease activity. *Journal of clinical periodontology*. 1996;23(9):832-8.
225. Alexander DC, Martin JC, King PJ, Powell JR, Caves J, Cohen ME. Interleukin-1 beta, prostaglandin E2, and immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy. *Journal of periodontology*. 1996;67(8):755-62.
226. Jin L, Söder B, Corbet EF. Interleukin-8 and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid in relation to periodontopathogens in untreated adult periodontitis. *Journal of periodontology*. 2000;71(6):929-39.
227. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clinica Chimica Acta*. 2004;343(1-2):1-16.
228. Sakellari D, Goodson J, Socransky S, Kolokotronis A, Konstantinidis A. Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva. *Journal of clinical periodontology*. 2000;27(1):53-60.
229. Rotzetter PA, Le Liboux A, Pichard E, Cimasoni G. Kinetics of spiramycin/metronidazole (Rodogyl®) in human gingival crevicular fluid, saliva and blood. *Journal of clinical periodontology*. 1994;21(9):595-600.
230. Pöllänen MT, Salonen JI, Uitto VJ. Structure and function of the tooth–epithelial interface in health and disease. *Periodontology 2000*. 2003;31(1):12-31.
231. Goodson J. Pharmacokinetic principles controlling efficacy of oral therapy. *J Dent Res*. 1989;68:1625-32.
232. Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontology 2000*. 2003;31(1):135-66.
233. Reinhardt RA, McDonald TL, Bolton RW, DuBois LM, Kaldahl WB. IgG subclasses in gingival crevicular fluid from active versus stable periodontal sites. *Journal of periodontology*. 1989;60(1):44-50.
234. Kardeşler L, Buduneli N, Bıyıkoğlu B, Çetinkalp Ş, Kütükçüler N. Gingival crevicular fluid PGE2, IL-1 β , t-PA, PAI-2 levels in type 2 diabetes and relationship with periodontal disease. *Clinical biochemistry*. 2008;41(10-11):863-8.
235. Kurtiş B, Tüter G, Serdar M, Akdemir P, Uygur C, Firatli E, et al. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis. *Journal of periodontology*. 2005;76(11):1849-55.

236. Ortiz-García YM, García-Iglesias T, Morales-Velazquez G, Lazalde-Ramos BP, Zúñiga-González GM, Ortiz-García RG, et al. Macrophage Migration Inhibitory Factor Levels in Gingival Crevicular Fluid, Saliva, and Serum of Chronic Periodontitis Patients. *BioMed research international*. 2019;2019.
237. Luke R, Khan SN, Iqbal PS, Soman RR, Chakkarayan J, Krishnan V. Estimation of specific salivary enzymatic biomarkers in individuals with gingivitis and chronic periodontitis: a clinical and biochemical study. *Journal of international oral health: JIOH*. 2015;7(9):54.
238. Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clinical microbiology reviews*. 2001;14(4):727-52.
239. Kinane D, Attström R. Advances in the pathogenesis of periodontitis. Group B consensus report of the fifth European Workshop in Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32:130.
240. Bodet C, Andrian E, Tanabe Si, Grenier D. Actinobacillus actinomycetemcomitans lipopolysaccharide regulates matrix metalloproteinase, tissue inhibitors of matrix metalloproteinase, and plasminogen activator production by human gingival fibroblasts: a potential role in connective tissue destruction. *Journal of cellular physiology*. 2007;212(1):189-94.
241. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour G. Interleukin-1 β , interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral microbiology and immunology*. 2006;21(4):256-60.
242. Cullinan MP, Seymour GJ. Periodontal disease and systemic illness: will the evidence ever be enough? *Periodontology 2000*. 2013;62(1):271-86.
243. King GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *Journal of periodontology*. 2008;79(8S):1527-34.
244. Mariotti A, Mawhinney M. Endocrinology of sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium. *Periodontology 2000*. 2013;61(1):69-88.
245. Calsina G, Ramón JM, Echeverría JJ. Effects of smoking on periodontal tissues. *Journal of clinical periodontology*. 2002;29(8):771-6.
246. Al-Ghamdi HS, Anil S. Serum antibody levels in smoker and non-smoker Saudi subjects with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2007;78(6):1043-50.
247. Reddy MS, Geurs NC, Gunsolley JC. Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Annals of periodontology*. 2003;8(1):12-37.
248. Herrera D, Alonso B, León R, Roldán S, Sanz M. Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35(s8):45-66.
249. Sekino S, Ramberg P, Lindhe J. The effect of systemic administration of ibuprofen in the experimental gingivitis model. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32(2):182-7.

250. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology* 2000. 1997;14(1):33-53.
251. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *Journal of periodontology*. 2008;79(8S):1569-76.
252. Sawamoto Y, Sugano N, Tanaka H, Ito K. Detection of periodontopathic bacteria and an oxidative stress marker in saliva from periodontitis patients. *Molecular Oral Microbiology*. 2005;20(4):216-20.
253. Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Annals of Periodontology*. 1997;2(1):123-37.
254. Brill N, Björn H. Passage of tissue fluid into human gingival pockets. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1959;17(1):11-21.
255. Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1098(1):216-29.
256. Lo H, Holm-Pederson P. Absence and presence of fluid from normal and inflamed gingivae. *Periodontics*. 1965;3:171.
257. Tsuchida K, Hara K. Clinical significance of gingival fluid measurement by "Periotron". *Journal of periodontology*. 1981;52(11):697-700.
258. Oates T, Graves D, Cochran D. Clinical, radiographic and biochemical assessment of IL-1/TNF- α antagonist inhibition of bone loss in experimental periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2002;29(2):137-43.
259. Haitinoh J, Ho E. The concentration of proteins in human gingival crevicular fluid. *Journal of periodontal research*. 1980;15(1):90-5.
260. Özkavaf A, Aras H, Huri CB, Mottaghian-Dini F, Tözüm TF, Etikan I, et al. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *Journal of oral science*. 2000;42(4):231-8.
261. Eley B, Cox S. Cathepsin B/L-, elastase-, tryptase-, trypsin-and dipeptidyl peptidase IV-like activities in gingival crevicular fluid: Correlation with clinical parameters in untreated chronic periodontitis patients. *Journal of periodontal research*. 1992;27(1):62-9.
262. Sağlam M, Köseoğlu S, Savran L, Pekbağrıyanık T, Sağlam G, Sütçü R. Levels of interleukin-37 in gingival crevicular fluid, saliva, or plasma in periodontal disease. *Journal of periodontal research*. 2015;50(5):614-21.
263. Köseoğlu S, Sağlam M, Pekbağrıyanık T, Savran L, Sütçü R. Level of interleukin-35 in gingival crevicular fluid, saliva, and plasma in periodontal disease and health. *Journal of periodontology*. 2015;86(8):964-71.
264. Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 β and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *Journal of periodontology*. 1995;66(10):852-9.

265. Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *The Journal of the American Dental Association*. 2008;139:18S-24S.
266. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva—a review. *Critical Reviews in oral biology & medicine*. 2002;13(2):197-212.
267. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1993;694(1):72-7.
268. Wassall RR, Preshaw PM. Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontology 2000*. 2016;70(1):65-79.
269. Skottrup PD, Dahlén G, Baelum V, Lopez R. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor is associated with signs of periodontitis in adolescents. *European journal of oral sciences*. 2018;126(4):292-9.
270. Franco-Martínez L, Cerón JJ, Vicente-Romero MR, Bernal E, Torres Cantero A, Tecles F, et al. Salivary Ferritin Changes in Patients with COVID-19. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;19(1):41.
271. Ishiwata S, Takada T, Nagasaka T. An attempt to synthesize dl-cularine by the decomposition of 2-(1, 2, 3, 4-tetrahydro-7-methoxy-2-methyl-8-isoquinolinoxy)-4, 5-dimethoxybenzaldehyde p-toluenesulphonylhydrazone under alkaline condition. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. 1970;90(11):1461-3.
272. Chapple I, Glenwright H, Matthews J, Thorpe G, Lumley P. Site-specific alkaline phosphatase levels in gingival crevicular fluid in health and gingivitis: cross-sectional studies. *Journal of clinical periodontology*. 1994;21(6):409-14.
273. Daltaban Ö, Saygun I, Bal B, Baloş K, Serdar M. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase levels in postmenopausal women: effects of phase I periodontal treatment. *Journal of periodontology*. 2006;77(1):67-72.
274. Sanikop S, Patil S, Agrawal P. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase as a potential diagnostic marker of periodontal disease. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2012;16(4):513.
275. Shibata Y, Yamashita Y, Miyazaki H, Ueno S, Takehara T. Effective method for discriminating between oral bacterial and human alkaline phosphatase activity. *Oral microbiology and immunology*. 1994;9(1):35-9.
276. Goodson J, Haffajee A, Socransky S. The relationship between attachment level loss and alveolar bone loss. *Journal of clinical periodontology*. 1984;11(5):348-59.
277. Lamster IB. The host response in gingival crevicular fluid: potential applications in periodontitis clinical trials. *Journal of periodontology*. 1992;63:1117-23.
278. Chapple I, Garner I, Saxby M, Moscrop H, Matthews J. Prediction and diagnosis of attachment loss by enhanced chemiluminescent assay of crevicular fluid alkaline phosphatase levels. *Journal of clinical periodontology*. 1999;26(3):190-8.

279. Totan A, Greabu M, Totan C, Spinu T. Salivary aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase: possible markers in periodontal diseases? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2006;44(5):612-5.
280. Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 1990;19(3):119-25.
281. Eley B, Cox S. Advances in periodontal diagnosis. 10. Potential markers of bone resorption. *British dental journal*. 1998;184(10):489-92.
282. Tsalikis L, Malaka E, Pavlitou E, Konstantinidis A. Aspartate aminotransferase levels in gingival crevicular fluid before and after initial periodontal treatment. *Journal of the International Academy of Periodontology*. 2001;3(3):68-74.
283. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 1993;64:474-84.
284. Romanelli R, Mancini S, Laschinger C, Overall CM, Sodek J, McCulloch CA. Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infection and immunity*. 1999;67(5):2319-26.
285. Franco C, Patricia H-R, Timo S, Claudia B, Marcela H. Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(2):440.
286. Tervahartiala T, Piriälä E, Ceponis A, Maisi P, Salo T, Tuter G, et al. The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2,-8,-13, and-14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis. *Journal of dental research*. 2000;79(12):1969-77.
287. Butler GS, Overall CM. Matrix metalloproteinase processing of signaling molecules to regulate inflammation. *Periodontology 2000*. 2013;63(1):123-48.
288. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation research*. 2003;92(8):827-39.
289. Bıyıkoğlu B, Buduneli N, Aksu K, Nalbantsoy A, Lappin DF, Evrenosoğlu E, et al. Periodontal therapy in chronic periodontitis lowers gingival crevicular fluid interleukin-1beta and DAS28 in rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology international*. 2013;33(10):2607-16.
290. Sorsa T, Uitto VJ, Suomalainen K, Vauhkonen M, Lindy S. Comparison of interstitial collagenases from human gingiva, sulcular fluid and polymorphonuclear leukocytes. *Journal of periodontal research*. 1988;23(6):386-93.
291. Tonetti M, Freiburghaus K, Lang N, Bickel M. Detection of interleukin-8 and matrix metalloproteinases transcripts in healthy and diseased gingival biopsies by RNA/PCR. *Journal of periodontal research*. 1993;28(7):511-3.
292. Golub L, Lee H, Greenwald R, Ryan M, Sorsa T, Salo T, et al. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflammation Research*. 1997;46(8):310-9.

293. Buduneli N, Vardar S, Atilla G, Sorsa T, Luoto H, Baylas H. Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels following adjunctive use of meloxicam and initial phase of periodontal therapy. *Journal of Periodontology*. 2002;73(1):103-9.
294. 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. *Journal of periodontology*. 1999;70(11):1292-302.
295. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals of periodontology*. 1996;1(1):821-78.
296. Gangbar S, Overall CM, McCulloch CA, Sodek J. Identification of polymorphonuclear leukocyte collagenase and gelatinase activities in mouthrinse samples: correlation with periodontal disease activity in adult and juvenile periodontitis. *Journal of periodontal research*. 1990;25(5):257-67.
297. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*. 2003;92(8):827-39.
298. Huang, Wenxue et al. "Ferritin expression in the periodontal tissues of primates." *European journal of histochemistry : EJH* vol. 63,3 3046. 3 Sep. 2019, doi:10.4081/ejh.2019.3046
299. Chakraborty S, Tewari S, Sharma RK, Narula SC. Effect of non-surgical periodontal therapy on serum ferritin levels: an interventional study. *J Periodontol*. 2014;85(5):688–96. Doi: 10.1902/jop.2013.130107.
300. Ingman, T.; Tervahartiala, T.; Ding, Y.; Tschesche, H.; Haerian, A.; Kinane, D.F.; Konttinen, Y.T.; Sorsa, T. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J. Clin. Periodontol*. **1996**, 23, 1127–1132.
301. Carranza, Newman T. *Clinical Periodontology* [Internet]. 12, ed. 2015. Available from: <https://es.scribd.com/doc/196769658/Carranza>
302. Pleis- M, France A. *Principles of periodontology* 2013. *Periodontol* 2000. 2013;61(357):16–53.
303. Drisko C. Nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000* [Internet]. 2001;25(1):77-88. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1034/j.1600-0757.2001.22250106.x>
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1600-0757.2001.22250106.x/full>
304. Frumker SC, Gardner WM. The Relation of the Topography of the Root Surface to the Removal of Calculus. *J Periodontol*. 1956;27(4):292–5.
305. Page RC. Periodontal Therapy: Prospects for the Future. *J Periodontol*. 1993;64(8):744–53
306. Sherman PR, Hutchens LH, Jewson LG, Moriarty JM, Greco GW, McFall WT. The effectiveness of subgingival scaling and root planning. I. Clinical detection of residual

calculus. *J Periodontol* [Internet]. 1990;61(1):3–8. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2179512>

307. Listgarten MA, Ellegaard B. Electron microscopic evidence of a cellular attachment between junctional epithelium and dental calculus. *J Periodontal Res.* 1973;8(3):143–50.
308. Aleo JJ, De Renzis F a, Farber P a, Varboncoeur a P. The presence and biologic activity of cementum-bound endotoxin. *J Periodontol.* 1974;45(9):672–5.
309. Hughes FJ, Smales FC. Immunohistochemical investigation of the presence and distribution of cementum-associated lipopolysaccharides in periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1986;21(6):660–7.
310. Cobb CM. Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol.* 1996;1(1):443–90.
311. 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.
312. Miglani DC, Raghupathy E, Rajasekher A, Shyamala S. Studies on salivary phosphatases III. On the possible relation between salivary alkaline phosphatase activity and gingival inflammation. *J Periodontol.* 1974;45:511–3.
313. Todorovic T, Dozic I, Vicente-Barrero M, Ljuskovic B, Pejovic J, Marjanovic M, et al. Salivary enzymes and periodontal disease. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006;11:E115–9.
314. Desai S, Shinde H, Mudda J, Patil V. Levels of alkaline phosphatase (ALP) in saliva of patients with chronic periodontitis; A clinical and biochemical study. *Internet J Dent Sci.* 2009;8:1–9.
315. Dabra S, Singh P. Evaluating the levels of salivary alkaline and acid phosphatase activities as biochemical markers for periodontal disease: A case series. *Dent Res J (Isfahan)* 2012;9:41–5.
316. Trivedi D, Trivedi C. Salivary proteome in periodontal diagnosis. *Int J Pharm Bio Sci.* 2012;3:241–5.
317. Ramesh A, Bhandary R, Thomas B, Souza SR, Kumari S. Alkaline phosphatase – A diagnostic marker of periodontitis in postmenopausal women – A biochemical study. *NITTE Univ J Health Sci.* 2013;3:71–3.
318. Luke R, Khan SN, Iqbal PS, Soman RR, Chakkarayan J, Krishnan V. Estimation of specific salivary enzymatic biomarkers in individuals with gingivitis and chronic periodontitis: A clinical and biochemical study. *J Int Oral Health.* 2015;7:54–7.

319. Jeyasree RM, Theyagarajan R, Sekhar V, Navakumar M, Mani E, Santhamurthy C. Evaluation of serum and salivary alkaline phosphatase levels in chronic periodontitis patients before and after nonsurgical periodontal therapy. *J Indian Soc Periodontol.* 2018 Nov-Dec;22(6):487-491. doi: 10.4103/jisp.jisp_133_18. PMID: 30631226; PMCID: PMC6305087.



ÖZGEÇMİŞ

