

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

**PERİODONTAL AÇIDAN SAĞLIKLI VE
PERİODONTAL HASTALIĞA SAHİP BİREYLERDE
DİŞETİ OLUĞU SIVISINDAKİ İNTERLÖKİN-1 BETA
(IL-1 β) VE İNTERLÖKİN-39 (IL-39) DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Murat ÇALIŞIR

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ

2020-ANTALYA

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

PERİODONTAL AÇIDAN SAĞLIKLI VE
PERİODONTAL HASTALIĞA SAHİP BİREYLERDE
DİŞETİ OLUĞU SIVISINDAKİ İNTERLÖKİN-1 BETA
(IL-1 β) VE İNTERLÖKİN-39 (IL-39) DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Murat ÇALIŞIR

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından TDH-2019-4851 proje numarası ile desteklenmiştir.

2020-ANTALYA

ONAY SAYFASI

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

İmza

Üye : Prof. Dr. Varol ÇANAKÇI
(Ordu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

Üye : Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

Üye : Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

Üye : Doç. Dr. Mükerrerem HATİPOĞLU
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Nezahat Arzu KAYAR
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

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

Diş Hekimliği Fakültesi

Kurum Yöneticisi

ETİK BEYAN

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

Dt. Murat ÇALIŞIR

İmza

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle bana her zaman yol gösterip destekleyen, tezimin her aşamasında emeğini ve yardımını esirgmeden yanımda olan değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca tüm bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, mesleki eğitime katkılarını unutmayacağım başta bölüm başkanımız Sayın Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN olmak üzere, Doç. Dr. Mükerrrem HATİPOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Özlem DALTABAN ve Dr. Öğr. Üyesi Nezahat Arzu KAYAR'a,

Saygıdeğer jüri hocam Prof. Dr. Varol ÇANAKÇI'ya,

Tez çalışmama maddi destek sağlayan, AÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalışmaktan hep mutluluk duyduğum sevgili çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Dt. Burak DEMİRCİ, Arş. Gör. Dt. Kazım KORKMAZ, Arş. Gör. Dt. Serhat YILMAZ, Arş. Gör. Dt. Mehmet Can KILINÇASLAN, Arş. Gör. Dt. Hilal KORKMAZ, Arş. Gör. Dt. Fatma KÖKSEL BABUN, Uzm. Dr. Zeliha AYTEKİN, Uzm. Dr. Milana CAFEROVA ve Uzm. Dr. Nuran SOYDAN'a,

Her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen klinik hemşiremiz Ulviye KAPLAN ve Derya SÜLÇE, klinik personellerimiz Ahmet ÖZMEN ve Halil TURGUT'a,

Tüm hayatım boyunca hiçbir fedakarlıktan çekinmeden her anımda yanımda olan, sevgi ve destekleriyle bu günlere gelmemde büyük emekleri olan canım annem Atiye ÇALIŞIR, babam Neçmeddin ÇALIŞIR ve abim Hakan ÇALIŞIR'a,

Tez sürecim ve hayatım boyunca daima yanımda olan, her daim desteğini hissettiğim, hayattaki en büyük şansım biricik eşim Kübra ÇALIŞIR'a tüm kalbimle sonsuz teşekkürler...

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, periodontal olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerde dişeti oluğu sıvısındaki (DOS), İnterlökin-1 Beta (IL-1 β) ve İnterlökin-39 (IL-39) seviyelerinin belirlenmesi ve periodontal klinik parametrelerle bu sitokinlerin ilişkisinin değerlendirilmesidir.

Yöntem: Bu çalışmaya, sistemik olarak sağlıklı ve sigara içmeyen 100 birey (50 periodontal olarak sağlıklı, 50 periodontitisli) katıldı. Tüm bireylerin, klinik periodontal parametreleri; plak indeksi (PI), gingival indeks (GI), sondlanabilir cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), sondlamada kanama (SK) değerleri alındı. DOS örnekleri toplandı ve ELISA yöntemi ile sitokin seviyeleri belirlendi.

Bulgular: DOS IL-1 β seviyeleri periodontitis grubunda sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir. DOS IL-1 β ile tüm klinik parametreler; PI (r:0,429), GI (r:0,570), SCD (r:0,559), KAS (r:0,560), SK (r:0,613) arasında pozitif anlamlı bir ilişki vardır (p=0,001). DOS IL-39 seviyeleri ile gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur (p=0,956).

Sonuç: IL-1 β seviyeleri periodontitis grubunda sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksektir ve IL-1 β seviyeleri ile klinik periodontal parametreler arasında anlamlı bir ilişki vardır. IL-39 seviyeleri ile gruplar ve klinik periodontal parametreler arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Anahtar Kelimeler: DOS, periodontitis, IL-1 β , IL-39

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to determine the levels of Interleukin-1 Beta (IL-1 β) and Interleukin-39 (IL-39) in the gingival groove fluid (DOS) in periodontally healthy individuals with periodontitis and to evaluate the relationship between these cytokines with periodontal clinical parameters.

Method: In this study is included 100 systemically healthy and non-smokers (50 periodontally healthy, 50 with periodontitis). Clinical periodontal parameters of all participants; plaque index (PI), gingival index (GI), probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), bleeding on probing (BOP) values were taken. DOS samples were collected and cytokine levels were determined by ELISA method.

Results: DOS IL-1 β levels were statistically significantly higher in the periodontitis group compared to the healthy group. There was a positive significant relationship between DOS IL-1 β and all clinical parameters, PI (r: 0.429), GI (r: 0.570), PD (r: 0.559), CAL (r: 0.560), and BOP (r: 0.613) (p=0,001). There was no statistically significant difference between the groups with DOS IL-39 levels (p=0,956).

Conclusion: IL-1 β levels are significantly higher in the periodontitis group compared to the healthy group, and there is a significant relationship between IL-1 β levels and clinical periodontal parameters. There was no significant relationship between IL-39 levels and groups and clinical periodontal parameters.

Keywords: GCF, periodontitis, IL-1 β , IL-39

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflaması	3
2.1.1. Periodontal Sağlık	5
2.1.2. Gingivitis	6
2.1.3. Periodontitis	7
2.2. Periodontal Hastalık Patogenezi	11
2.3. Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS)	17
2.4. Sitokinler	21
2.4.1. IL-1	24
2.4.2. IL-39	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Etik Kurul Onayı ve Resmi İzinler	27
3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi	27
3.2.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri	27
3.2.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri	28
3.3. Klinik Periodontal Değerlendirmeler	28
3.3.1 Pİ Değerlendirme Yöntemi	28
3.3.2 Gİ Değerlendirme Yöntemi	29
3.3.3 SCD Değerlendirme Yöntemi	29
3.3.4. KAS Değerlendirme Yöntemi	29
3.3.5. SK Değerlendirme Yöntemi	29
3.4. DOS Örneklerinin Toplanması, Saklanması ve Miktarlarının Ölçülmesi	29
3.5. Laboratuvar İşlemleri	32
3.5.1. DOS Örneklerinin Hazırlanması	32

3.5.2. DOS Örneklerinin Biyokimyasal Analizi	32
3.5.3. IL-1 β Miktarının Belirlenmesi	32
3.5.4. IL-39 Miktarının Belirlenmesi	34
3.6. İstatiksel Analizler	35
4. BULGULAR	36
4.1. Demografik Bulgular	36
4.2. Klinik Parametre Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	37
4.3. DOS Hacmi Ölçümlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	38
4.4. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyelerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	39
4.5. DOS Hacmi ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler	40
4.6. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler	42
4.7. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyeleri ve DOS Hacmi Arasındaki İlişkiler	44
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	58
EKLER	79
EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi	79
EK-2 Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	81
ÖZGEÇMİŞ	84

SİMGELER ve KISALTMALAR

Aa	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
AAP	Amerikan Periodontoloji Akademisi
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AKS	Akut Koroner Sendrom
DOS	Dişeti Oluğu Sıvısı
EBI3	Epstein Barr Virus İnduced 3
EFP	Avrupa Periodontoloji Federasyonu
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ELISA	Enzym Linked-Immuno-Sorbent Assay
FGF	Fibroblast Growth Factor
F. nucleatum	Fusobacterium nucleatum
Gİ	Gingival İndeks
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
G-CSF	Granulocyte-Colony Stimulating Factor
HbA1c	Hemoglobin A1c
IFN	İnterferon
Ig	İmmünglobulin
IGF	Insulin-Like Growth Factor
IL	İnterlökin
IL-1Ra	Interleukin-1 Receptor Antagonist
KAS	Klinik Ataşman Seviyesi
LPS	Lipopolisakkarit
MAMP	Mikrobiyal İlişkili Moleküler Patern
MCP	Monocyte Chemotactic Protein
MIP	Macrophage Inflammatory Protein
µl	Mikrolitre
mm	milimetre
MMP	Matriks metalloproteinaz
NHANES	Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırması
NMOSD	Nöromiyelitis Optika Spektrum Bozukluklar

NND	Enflamatuar Olmayan Nörolojik Bozukluklar
NSTEMI	Non-ST-Segment Elevasyonlu Miyokard Enfarktüs
OD	Optical Density
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
pg	Pikogram
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
Pİ	Plak İndeksi
PMNL	Polimorfonükleer Lökositler
P.gingivalis	Porphyromonas gingivalis
RANTES	Regulated Upon Activation, Normal T Cell Expressed And Secreted
RRMS	Tekrarlayan-Düzelen Multiple Sklerozlu
SCD	Sondlanabilir Cep Derinliği
SK	Sondlamada Kanama
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
sn	Saniye
STEMI	ST-Segment Elevasyonlu Miyokard Enfarktüs
Th	Yardımcı T hücresi
TIMP	MMP doku inhibitörleri
TLR	Toll-Like Reseptör
TNF	Tumor Necrosis Factor
T. denticola	Treponema denticola
T. forsythia	Tannerella forsythia
UAP	Unstabil Angina Pectoris
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
° C	Santigrat derece

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Periodontitis Patogenezi	17
Şekil 3.1. Williams Periodontal Sondu	28
Şekil 3.2. Standart Kağıt Stripler	30
Şekil 3.3. Periotron® 8010	31
Şekil 3.4. Hamilton #701 Şıngası	31
Şekil 3.5. Elx50™ Microplate Washer, Biotek™ Vermont, USA	33
Şekil 3.6. Stop Solüsyonunun Eklenmesi ile Rengin Maviden Sarıya Dönmesi	33
Şekil 3.7. Elx 800™ Microplate Reader, Biotek™, Vermont, USA	34
Şekil 3.8. Pıd Kontrollü İnkübatör, Termal Laboratuvar Aletleri, İstanbul, Türkiye	35
Şekil 4.1. Grupların Yaş Ortalamalarının Dağılımı	37
Şekil 4.2. Grupların Cinsiyete Göre Dağılımı	37
Şekil 4.3. DOS Hacminin Gruplara Göre Dağılımı	39
Şekil 4.4. IL-1β Seviyesinin Gruplar Arası Dağılımı	40
Şekil 4.5. IL-39 Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı	40
Şekil 4.6. DOS Hacmi ile Klinik Parametre Değerleri Arasındaki İlişki	41
Şekil 4.7. DOS IL-1β Seviyesi ile Klinik Parametre Değerleri Arasındaki İlişki	43
Şekil 4.8. DOS IL-39 Seviyesi ile Klinik Parametre Değerleri Arasındaki İlişki	44
Şekil 4.9. DOS Hacmi ile IL-1β Seviyelerinin Değişimi	45
Şekil 4.10. DOS Hacmi ile IL-39 Seviyelerinin Değişimi	45

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. 2017 Yılında Kabul Edilen Periodontal Hastalıkların ve Durumların Sınıflandırılması	4
Tablo 2.2. Periodontitis Evreleme	9
Tablo 2.3. Periodontitis Derecelendirme	11
Tablo 2.4. Fonksiyonlarına Göre Sitokinlerin Sınıflandırılması	22
Tablo 4.1. Gruplara Ait Demografik Veriler	36
Tablo 4.2. Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması	38
Tablo 4.3. DOS Hacminin Karşılaştırılması	38
Tablo 4.4. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyelerinin Karşılaştırılması	39
Tablo 4.5. DOS Hacmi ve Klinik Parametreler Arası İlişki	41
Tablo 4.6. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler	42
Tablo 4.7. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyeleri ve DOS Hacmi Arasındaki İlişkiler	45

1. GİRİŞ

Periodonsiyum; dişeti, sement, periodontal ligament ile alveoler kemiğin oluşturduğu, dişleri çevreleyen ve koruyan dokulardan oluşmaktadır.⁽¹⁾ Bu dokularda meydana gelen hastalıklar “periodontal hastalıklar” olarak tanımlanmaktadır.⁽²⁾ Periodontal hastalıklar, insanlarda görülen en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Diş çevresinde biriken patojen bakteriler ve bunlara karşı oluşan konak cevabı sonucu, basit dişeti enfeksiyonu olarak başlayıp; bu durumun ilerlemesiyle dişeti, periodontal ligament, sement ve alveoler kemikte hasara sebep olan ve periodonsiyumun yıkımıyla sonuçlanan enfeksiyonlardır.^(3,4)

DOS, serum kaynaklı bir eksuda olup, sağlıklı periodonsiyumda dişeti bağ dokusu ve endotelini geçerek dişeti oluğu aracılığıyla ağız içerisine dökülmekte olan, şeffaf bir sıvıdır. Enflamasyon ile birlikte akış hızında ciddi bir artış gözlenir. Enflamasyon derecesi ve buna bağlı içeriğiyle ilişkili olarak kıvamı ve rengi de değişebilir.⁽⁵⁾

Periodontal hastalık aktivitesini objektif olarak değerlendirebilecek parametreler bulabilmek amacıyla salya, kan, bakteri plağı ve DOS örnekleri incelenmiş, yapılan araştırmalar sonucunda DOS seviyesi ve moleküler yapısının lokal doku yıkımını daha iyi yansıttığı saptanmıştır.⁽⁶⁾

Bakterilerin ve bakteriyel kaynaklı ürünlerin, direkt ve dolaylı olarak periodontal doku yıkımına sebep olduğu bilinmektedir. Bakteri ve bakteri kaynaklı bu ürünlere karşı konak tarafından üretilen proteinazlar, sitokinler ve prostaglandinler doku yıkımına neden olmaktadır.⁽⁷⁾ Sitokinler, hücreler arası iletişimi sağlayan peptid yapıda moleküller olup, enflamatuar hastalıklarda, immün yanıtın oluşmasında ve hücreler arası etkileşimde rol oynamaktadırlar.⁽⁸⁾ Sitokinler, bakterilere ve bakteriyel kaynaklı ürünlere karşı cevap olarak üretilirler ve farklı sitokin tipleri farklı tipte enflamatuar ve immün yanıtın düzenlenmesini sağlar.⁽⁹⁾

IL-1 β sitokini, katabolin olarak da bilinen, vücutta IL-1 β geni tarafından şifrelenen interlökin 1 ailesinin üyesidir. Bu sitokin aktif makrofajlar tarafından bir propeleoin olarak üretilir, caspase 1 (CASP1/ICE) tarafından aktive edilir.⁽¹⁰⁾ IL-1 β immünite ve enflamasyonda anahtar role sahiptir, doğal immün cevap ile yakın ilişkilidir. Doku hasarı ve enflamatuar değişikliklere neden olan diğer mediyatörlerin salgısını ve

sentezini artırmaktadır.⁽¹¹⁾ DOS'taki IL-1 β konsantrasyonu gingivitis ve periodontitisten etkilenmiş bölgelerde artmaktadır ve periodontal hastalığın şiddeti ile IL-1 β 'nın doku konsantrasyonu doğrudan ilişkilidir. Yapılan hayvan çalışmaları IL-1 β 'nın alveoler kemik yıkımını ve doku enflamasyonunu artırdığını göstermiştir. Periodontal hastalığın patogeneğinde temel rolü olan IL-1 β 'nın etkisi farklı çalışmalarda açıkça belirtilmiştir.^(12,13)

Yeni keşfedilen sitokinlerden birisi de IL-39'dur. IL-12 ailesine aittir ve immünopresipitasyon ile aktive edilmiş B hücrelerinin kültür süpernatantında kararlı birleşimi gösterilmiş olan IL-12/IL-23p19 ve IL-27/IL-35EBI3'ten oluşur.⁽¹⁴⁾ IL-39, IL-23p19 alfa alt birimi ve EBI3 beta alt birimi içeren bir heterodimerdir. IL-35'e benzer şekilde IL-39'un, STAT1/STAT3'ün aktivasyonu yoluyla enflamatuar tepkilere aracılık ettiği gösterilmiştir.⁽¹⁵⁾ IL-39'un otoimmün hastalıkların patojenik özelliklerinin uyarılması için kritik öneme sahip olan nötrofillerin farklılaşmasını ve/veya üretimini indüklediği de gösterilmiştir. Ayrıca, IL-39 ile indüklenen nötrofiller, B hücresi aktivasyon faktörünü salgılayarak aktive edilmiş B hücrelerinde IL-39 ekspresyonu üzerinde pozitif geri bildirim sağlamıştır.⁽¹⁶⁾ Böylece, aktive B hücreleri tarafından salgılanan IL-39'un önemli bir pro-enflamatuar sitokin olduğu ve sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi otoimmün hastalıkların tedavisi için potansiyel bir terapötik hedef olabileceği gösterilmiştir.⁽¹⁷⁾

Her geçen gün enflamatuar süreçlerle ilgili yeni sitokinler rapor edilmektedir. Literatür taramasında mevcut bilgiler ışığında IL-39 ile periodontal sağlık-hastalık ilişkisini değerlendirecek herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla bu çalışmada; DOS'taki IL-39 seviyesini periodontal mediyatörlerden biri olan IL-1 β rehberliğinde araştırarak, klinik periodontal parametrelerle ilişkilendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Periodontal hastalıklar; dental biyofilme yanıt olarak oluşan kronik enflamasyon sonucu diş destek dokularının yıkımı ve dişlerin kaybıyla sonuçlanan, toplumda sıkça görülen kronik enflamatuvar hastalıklardır.⁽¹⁸⁾ Yapılan sistematik bir derlemeye göre, periodontal hastalıkların insanlarda görülen en yaygın altıncı hastalık olduğu bilinmektedir.⁽¹⁹⁾

Dünya genelinde insanlarda en çok rastlanan kronik enfeksiyonlar arasında periodontal hastalıklar bulunmaktadır. ABD’de 3742 kişinin yer aldığı bir çalışmada kişilerin %47’sinin periodontitise sahip olduğu bildirilmiştir.⁽²⁰⁾ Türkiye’de 2012 yılında 1400 kişi üzerinde yapılan bir araştırmada ise bireylerin %51,9’u gingivitis, %31,4’ü kronik periodontitis, %1,4’ü agresif periodontitis ve yalnızca %0,3’ü ise periodontal olarak sağlıklı olarak değerlendirilmiştir.⁽²¹⁾ Popülasyonun %10-15’inde periodontal hastalığın ileri evrelerine rastlanmıştır ve bu durum vücutta önemli bir enflamatuvar yük meydana getirmektedir.⁽²²⁾ Periodontal hastalıklar; diş kaybıyla beraber, çiğneme fonksiyonunu ve estetiği olumsuz yönde etkileyerek, yaşam kalitesi üzerinde negatif sonuçlara neden olur.^(23,24) Aynı zamanda lokal bir enfeksiyon gibi görülse de, bireylerin genel sistemik durumlarını etkileyen önemli bir halk sağlığı sorunudur.⁽²⁵⁾

2.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflaması

Periodontal hastalıklar günümüze kadar birçok farklı şekilde sınıflandırılmıştır. 1999 yılında Uluslararası Periodontoloji Workshop’unda kabul edilen sınıflama,⁽²⁶⁾ 2017 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi (AAP) ve Avrupa Periodontoloji Federasyonu (EFP) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda terkedilmiş ve yeni bir periodontal hastalık sınıflaması yapılmıştır.⁽²⁷⁾

Tablo 2.1. 2017 Yılında Kabul Edilen Periodontal Hastalıkların ve Durumların Sınıflandırılması⁽²⁷⁾

I- Periodontal Durumlar ve Hastalıklar
A) Periodontal Sağlık, Gingival Durum ve Hastalıklar
1. Periodontal Sağlık ve Gingival Sağlık
1.1. Bozulmamış Periodonsiyum Varlığında Gingival Sağlık
1.2. Hasara Uğramış Periodonsiyum Varlığında Gingival Sağlık
1.2.1. Stabil Periodontitis Hastası
1.2.2. Periodontitis Olmayan Hasta
2. Dental Biyofilm Kaynaklı Gingivitis
2.1. Sadece Biyofilme İlişkili Gingivitis
2.2. Sistemik ya da Lokal Risk Faktörleri ile İlişkili
2.3. İlaça Bağlı Dişeti Büyümeleri
3. Dental Biyofilm Kaynaklı Olmayan Gingival Hastalıklar
3.1. Genetik/Gelişimsel Rahatsızlıklar
3.2. Spesifik Enfeksiyonlar
3.3. Enflamatuvar ve İmmün Durumlar
3.4. Reaktif Durumlar
3.5. Neoplazmlar
3.6. Hormonal, Beslenme ve Metabolik Hastalıklar
3.7. Travmatik Lezyonlar
3.8. Dişeti Renklenmeleri
B) Periodontitis
1. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
1.1. Nekrotizan Gingivitis
1.2. Nekrotizan Periodontitis
1.3. Nekrotizan Stomatit
2. Periodontitis
2.1. Durum; Olayın Şiddetine ve Karmaşıklığına Bağlı (Evre 1,2,3,4)
2.2. Genişlik ve Yayılıma Göre (Lokalize, Generalize, Molar-İnsizör Yayılımlı)
2.3. Derece; Tedaviye Cevaba Göre, Süreci Belirleyen Kanıtlara ve Risk Faktörlerine Göre (Derece A, B, C)
3. Sistemik Hastalıkların Belirtisi Olarak Periodontitis

C) Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar

1. Periodontal Destek Dokuları Etkileyen Sistemik Durumlar veya Hastalıklar

1.1. Periodontal Enflamasyonu Etkileyerek Periodontal Doku Yıkımını Major Olarak Etkileyen Sistemik Bozukluklar

1.1.1. Genetik Bozukluklar

1.1.2. Kazanılmış İmmün Yetmezlik Hastalıkları

1.1.3. Enflamatuvar Hastalıklar

1.2. Periodontal Hastalıkların Patogenezini Etkileyen Diğer Sistemik Bozukluklar

1.3. Periodontitisten Bağımsız Olarak Periodontal Dokuların Kaybına Neden Olan Sistemik Bozukluklar

1.3.1. Neoplazmlar

1.3.2. Periodontal Dokuları Etkileyen Diğer Bozukluklar

2. Periodontal Abseler ve Endodontik-Periodontal Lezyonlar

3. Mukogingival Durumlar ve Deformiteler

4. Travmatik Okluzal Kuvvetler

5. Diş ve Protez Kaynaklı Faktörler

II- Peri-implant Durumlar ve Hastalıklar

A) Peri-implant Sağlık

B) Peri-implant Mukozitis

C) Peri-implantitis

D) Peri-implant Yumuşak ve Sert Doku Bozuklukları

2.1.1. Periodontal Sağlık

Periodontal sağlık, bir bireyin normal bir şekilde yaşamını sürdürmesine izin veren, mevcut ya da geçirilmiş hastalıklara bağlı olarak fiziksel veya zihinsel problemlerin oluşmadığı ve enflamatuvar periodontal hastalığın bulunmadığı durumu ifade eder. Dişeti enflamasyonunun klinik belirtilerinin görülmediği ve başarılı bir şekilde tedavi edilen gingivitis, periodontitis veya diğer periodontal durumlu hastalar da bu şekilde kabul edilebilir.⁽²⁸⁾

Periodontal sağlık, klinikte çok fazla karşılaşılabilecek bir durum değildir, fakat nadir de olsa gözlemlenebilir. Klinik olarak sağlıklı terimi, DOS'taki enflamatuvar belirteçler gibi klinik enflamasyon göstergelerinin bulunmadığı veya çok düşük seviyesini gösteren dokuyu belirtmektedir.⁽²⁸⁾

Klinik olarak gingival sağlık; bozulmamış periodonsiyum varlığında gingival sağlık ve hasara uğramış periodonsiyum varlığında gingival sağlık olarak ikiye ayrılır.

Hasara uğramış periodonsiyum varlığında gingival sağlık ise, stabil periodontitis ve periodontitis olmayan (dişeti çekilmesi olan veya kron boyu yükseltmesi yapılan bireyler gibi) bireyler olarak ikiye ayrılır. Bozulmamış periodonsiyum varlığında gingival sağlıktadır; sondlamada kanama, eritem, ödem, ataşman ve kemik kaybı görülmez. Bireyler semptom göstermezler. Fizyolojik kemik seviyesi mine-sement birleşiminin 1-3 mm apikalinde yer alır. Hasara uğramış periodonsiyum varlığında gingival sağlıktadır; yine bireyler asemptomatiktir, sondlamada kanama, eritem ve ödem görülmez; ancak klinik ataşman ve kemik seviyelerinde kayıplara rastlanır. Bununla birlikte, başarılı bir şekilde tedavi edilen stabil periodontitis hastalarının, tekrarlayan periodontitis riskiyle karşılaşma ihtimali göz ardı edilmemeli ve sıkı takip altında tutulmalıdırlar. Periodontitis olmayan hastalarda ise, periodontitis riskinin arttığına dair mevcut bir kanıt yoktur.⁽²⁹⁾

2.1.2. Gingivitis

2017 Dünya Çalıştayı'nda gingival hastalıklar; dental biyofilm kaynaklı ve dental biyofilm kaynaklı olmayan gingival hastalıklar olarak ikiye ayrılmıştır.⁽²⁷⁾

Dental biyofilm kaynaklı gingivitis; dişler üzerinde dental biyofilm oluşması ile meydana gelen, dişetinde kızarıklığa, spontan veya sondlamada kanamaya, DOS'ta artışa, dişetinde ödeme neden olan ve radyografik kemik kaybının izlenmediği periodontal hastalıktır. Sondlamada kanama ve DOS artışı hastalığın en erken iki temel bulgusudur.⁽³⁰⁾ Gingivitisin bir diğer gözlenebilir bulgusu ise portakal kabuğu görüntüsünün ödemle birlikte kaybolmasıdır.⁽³¹⁾ Gingival enflamasyon ile ataşman kaybı arasında bağlantı bulunmuş ve buna göre daha önceden ataşman kaybı gözlenen bölgelerde daha fazla gingival enflamasyon, ataşman kaybı gözlenmeyen bölgelerde ise daha az gingival enflamasyona rastlanmıştır.⁽³²⁾ Gingivitis her ne kadar geri dönüşümlü bir hastalık gibi görülse de, tedavi edilmediği takdirde geri dönüşümsüz yıkımların görüldüğü periodontitise kadar ilerleyebilir.⁽³³⁾

Dental biyofilm kaynaklı olmayan gingival hastalıklar ise; dental biyofilmden bağımsız olan ve biyofilm bozulsa bile devam eden durumları kapsar. Bu gingival hastalıklar, lokal olabileceği gibi genel sistemik durumun bir göstergesi de olabilir. Bunlar; genetik/gelişimsel rahatsızlıklar, spesifik enfeksiyonlar, enflamatuar ve immün durumlar, reaktif durumlar, neoplazmlar, hormonal, beslenme ve metabolik hastalıklar, travmatik lezyonlar, dişeti renklenmeleri olarak değerlendirilebilir.⁽³⁴⁾

2.1.3. Periodontitis

Periodontitis, disbiyotik biyofilmler ile ilişkili ve diş destek dokularının ilerleyen yıkımı ile karakterize olan kronik multifaktöriyel enflamatuvar bir hastalıktır. Primer özellikleri arasında; periodontal cep ve dişetinde kanama varlığıyla birlikte, klinik ataşman kaybı ve radyografik olarak gözlemlenen alveoler kemik kaybı yer alır. Tedavi edilmediği takdirde ise artmış mobilite ve diş kaybı ile sonuçlanan bir durum olarak ortaya çıkar. 2017 sınıflamasına göre periodontitis tanısı koyabilmemiz için;

- Birbirine komşu olmayan en az 2 dişte izlenebilen interdental klinik ataşman kaybı olması ya da,
- Vestibüler yüzde cep derinliğinin ve klinik ataşman kaybının 3mm ya da daha fazla olması gerekmektedir.

Belirtilen klinik ataşman kayıpları arasında; travma kaynaklı dişeti çekilmesi, dişin servikal hattına uzanan çürükler, üçüncü büyük azı dişlerinin malpozisyonuna veya çekilmesine bağlı olarak gelişen ikinci büyük azı dişlerinin distalindeki cep derinliği, vertikal kök kırığı gibi ek etiyolojik faktörlerin yer almaması gerekmektedir.⁽²³⁾

Üç farklı periodontitis çeşidi tanımlanmıştır:

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

Ayrıcı tanıda, nekrotizan periodontitisin spesifik belirti ve semptomlarına ve sistemik hastalıkların varlığına veya yokluğuna dikkat edilmelidir.⁽³⁵⁾

2017 Dünya Çalıştayı'nda periodontal hastalıkların sınıflandırılmasında evreleme (yayılım; evrelemeye tanımlayıcı olarak eklenmektedir) ve derecelendirme sistemine geçilmiştir.⁽²⁷⁾

Evre (Stage)

Periodontal dokularda kayıplara neden olan hastalığın; yayılımı, şiddeti ve kompleks olma durumu, hastalığın değişik evrelerini gösterir. Yayılımı; her evre için lokalize (etkilenen alanlar %30'dan az olduğunda), generalize ve molar-keser tutulumu olarak belirtilir. Şiddetini; interdental ataşman kaybı, radyografik olarak tespit edilen kemik kaybı ve diş kaybı miktarları belirlerken; kompleksiteyi ise; sondlama cep derinliği,

mobilité, furkasyon tutulumu varlığı, kemik yıkım paterni, oklüzal ilişkiler gibi tedavi planında ve takibinde dikkate alınması gereken faktörler oluşturur.⁽³⁵⁾

Evre I (Stage I) (Başlangıç Periodontitis)

Gingivitis ile periodontitis arasındaki sınır bölgedir, ataşman kaybının erken aşamalarını temsil eder. İnterdental klinik ataşman kaybı 1-2 mm, radyografik muayenede ise alveoler kemikte kayıp koronal üçlüde %15'ten azdır ve çoğunlukla horizontal kayıp gözlenir. Maksimum sondlama derinliği 4 mm veya daha azdır ve periodontitise bağlı diş kaybı gözlenmez.⁽³⁵⁾

Evre II (Stage II) (Orta Derecede Periodontitis)

Klinik periodontal muayenenin sonucunda periodontitisin diş destek dokularına verdiği karakteristik hasarların tanımlandığı yerleşik periodontitisi ifade eder. İnterdental klinik ataşman kaybı 3-4 mm, alveoler kemikte kayıp ise koronal üçlüde %15-33 arasındadır ve çoğunlukla horizontal kayıp gözlenir. Maksimum sondlama derinliği 5 mm veya daha azdır ve periodontitise bağlı diş kaybı gözlenmez.⁽³⁵⁾

Evre III (Stage III) (Şiddetli Periodontitis 'Ek Diş Kaybı Potansiyeli Olan')

Epitelyal ataşmanda ciddi hasar oluşmuştur ve ileri tedavi yapılmadığında diş kaybı meydana gelebilir. Klinik ataşman kaybı 5 mm'den daha fazladır ve radyografik kemik kaybı kökün orta veya apikal üçlüsüne uzanır. Periodontal kaynaklı diş kaybı sayısı 4 veya daha azdır. Sondlama cep derinliği 6 mm veya daha fazla, vertikal kemik kaybı 3 mm veya daha fazla, sınıf II veya III furkasyon problemi mevcuttur. Orta seviyede alveoler sırt defektleri mevcuttur. Diş kaybı olmasına rağmen çiğneme işlevi idame ettirilebilir.⁽³⁵⁾

Evre IV (Stage IV) (İleri Periodontitis 'Yaygın Diş Kaybı ve Dentisyonun Kaybı Potansiyeli Olan')

Periodontal dokularda ciddi yıkım mevcuttur. Periodontal destek dokulardaki yıkıma bağlı olarak diş kaybı meydana gelir ve bu da çiğneme fonksiyonunun kaybına yol açar. Periodontitisin uygun şekilde kontrol edilememesi durumunda diş kaybı artabilir. Ataşman kaybı 5 mm'den daha fazladır ve radyografik kemik kaybı kökün orta veya apikal kısmına kadar uzanır. Periodontal kaynaklı diş kaybı 5 veya daha fazla sayıdadır. Evre III periodontitise ek olarak çiğneme disfonksiyonu mevcuttur ve dişlerde sekonder oklüzal travmaya bağlı sınıf II veya daha fazla mobilité mevcuttur.

Alveoler sırt defektleri, dişlerde malpozisyonlar vardır ve kalan diş sayısı 20'den daha azdır.⁽³⁵⁾

Tablo 2.2. Periodontitis Evreleme ⁽³⁵⁾

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

Derecelendirme (Grade)

Derecelendirme; hastalığın ilerleme hızının saptanabilmesi, ilerleme riskinin belirlenebilmesi, yetersiz tedavi yanıtlarının ve hastalığın ve/veya tedavisinin hastanın genel sağlığını olumsuz yönde etkileme riskinin değerlendirilmesi gibi

hastalığın biyolojik özellikleri hakkında ek bilgiler sağlar. Direkt kanıt; son beş yılda radyografide gözlenen kemik yıkım miktarı iken, indirek kanıt yüzde olarak kemik kaybı/hastanın yaşı arasındaki orana göre belirlenir. Diğer belirteç ise yıkım miktarı ve bakteriyel yük arasındaki göreceli ilişkidir. Sigara kullanımı ve diyabet ise derecelendirmeyi belirlemede risk faktörü olarak yer almaktadır.⁽³⁵⁾

Derece A (Grade A) (Yavaş İlerleme Oranı)

Radyografik incelemede 5 yıl boyunca kemik kaybı yoktur, kemik kaybı ve yaş oranı yüzde olarak 0.25'ten küçük, biyofilm miktarına göre periodontal dokularda yıkım düşük seviyededir. Sigara kullanımı ve diyabet bulguları bulunmamaktadır.⁽³⁵⁾

Derece B (Grade B) (Orta İlerleme Oranı)

Radyografik incelemelerde 5 yıl boyunca alveoler kemikte kayıp 2 mm'den azdır, kemik kaybı ve yaş oranı yüzde olarak 0.25 ile 1 arasındadır, biyofilm miktarı ve periodonsiyumdaki kayıp miktarı uyumludur. Sigara kullanımı günde 10 adetten azdır ve Hemogloblin A1c (HbA1c) değeri 7'den düşüktür.⁽³⁵⁾

Derece C (Grade C) (Hızlı İlerleme Oranı)

Radyografik incelemelerde 5 yıl boyunca alveoler kemikte kayıp 2 mm ve daha fazladır, kemik kaybı ve yaş oranı yüzde olarak 1'den büyüktür, biyofilm miktarına göre periodontal yıkım beklenenden fazladır. Sigara kullanımı günde 10 adetten fazladır ve HbA1c değeri 7 ve 7'nin üzerindedir.⁽³⁵⁾

Tablo 2.3. Periodontitis Derecelendirme ⁽³⁵⁾

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

2.2. Periodontal Hastalık Patogenezi

Enflamasyon; ısı, kimyasal ajanlar veya bakteriyel enfeksiyonu da içeren birçok yaralanma ve müdahaleler sebebiyle oluşan fizyolojik yanıttır. İmmün mekanizmalar, enflamasyonun gerilemesinde ve yaralanan ya da kaybedilen dokuların yeniden yapılandırılmasıyla sonuçlanan iyileşme sürecinde önemli rol oynamaktadır. Bu yüzden, doğal immünite ve kazanılmış immünite yaralanmış dokunun denge durumuna geçmesi için koordine şekilde çalışmaktadır. Enflamasyon kronik hale geldiğinde, kazanılmış immünitenin hücresel olmayan mekanizmalarının katılımıyla adaptif immün yanıt aktive olmaktadır.⁽³⁶⁾

Periodontal dokuların patogenezi dental biyofilmdeki bakteriye karşı olan enflamatuar yanıtla yönlendirilmektedir. İmmün–enflamatuar mekanizmaların düzenlenmesi hastaların genetik özelliklerine bağlıdır ve çevresel faktörlerle

modifiye olmaktadır.⁽³⁷⁾ Dental biyofilm birikimine yanıt olarak gingival dokularda oluşan değişimler çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Bu değişimler dizisi histopatolojik, radyografik ve morfolojik özelliklerine göre başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş evre olarak dört aşamada değerlendirilmiştir. Başlangıç ve erken lezyon gingivitisin erken dönem evreleriyle, yerleşmiş lezyon kronik gingivitisle, ilerlemiş lezyon ise periodontitisle paralellik göstermekle birlikte, bu aşamalar arasında kesin sınırlar bulunmamaktadır.⁽³⁸⁾

Gingival dokuların 2-4 günlük dental biyofilm birikimine karşı verdiği cevap sonucu oluşan değişiklikler “başlangıç lezyonu” olarak adlandırılır. Dokulardaki değişiklikler yalnızca histolojik olarak gözlemlenebildiğinden “subklinik gingivitis” olarak da isimlendirilir.⁽³⁹⁾ Yerleşik lökositler ve endotel hücreleri tarafından dental biyofilme karşı oluşturulan bu yanıt klasik eksudatif vaskülit ile karakterizedir. Perivasküler kollajenin kaybını içermekle birlikte antijenik ve kemotaktik yapıların salınımını sağlar.⁽⁴⁰⁾

Dental biyofilm birikimi devam ederse 4-10 gün içerisinde “erken lezyon” gelişir. Bu aşamada lenfosit ve diğer mononükleer hücrelerin yoğun infiltrasyonu, fibroblastların patolojik değişimleri ve devam eden bağ doku yıkımı meydana gelir.⁽⁴⁰⁾ Retepegleri oluşturmak üzere birleşim epiteli alttaki bağ dokusuna doğru proliferer olur.⁽⁴¹⁾ Devamında sulkus ve birleşim epitelinin geçirgenliği artar ve bakteri ile bakteri kaynaklı ürünlerin dişeti dokularına daha rahat geçmesine neden olur.⁽⁴²⁾ Bu aşamada, klinik olarak sondlamada kanama ve DOS artışı görülebilir.⁽⁴³⁾

Birikim devam ederse 2-3 hafta içerisinde ‘yerleşmiş lezyon’ meydana gelir. Bu evrede baskın olan hücreler plazma hücreleridir. Bağ dokusundaki yıkım sonucu birleşim epiteli apikale doğru yer değiştirmiş ve cep epiteline dönüşmüştür. Rete pegler çevredeki bağ dokusu içine doğru gelişmeye devam eder.⁽³⁸⁾ Klinik olarak dişetinde hemoraji, renk ve kontur değişikliklerinin izlenebildiği orta veya şiddetli olarak görülebilen bir dişeti enflamasyonudur. Bu evrede kollajenolitik aktivitenin artmasına karşılık fibroblastlar ile kollajen sentezinin de arttığı gözlemlenmektedir.⁽⁴⁴⁾

Etken ortadan kaldırıldığında enflamasyon çözülür, fakat etken ortadan kaldırılmazsa periodontitise geçişin gerçekleştiği son aşama olan ‘ilerlemiş lezyon’ ortaya çıkar.

Bu aşamada yerleşmiş lezyon ile aynı hücresel yapıda özellikler izlenir. Ek olarak ilerlemiş lezyonda, alveoler kemiği ve periodontal ligamentin yıkımı ile dişte mobilite artışı ve dişin kaybına kadar ilerleyen durumlar ortaya çıkabilir.⁽⁴⁵⁾

Oral kavitede 700'den fazla mikroorganizma türü tespit edilmiştir.⁽⁴⁶⁾ Bu mikroorganizmaların çoğu mukoza ve diş yüzeyine kolonize olup, üç boyutlu ve yapısal olarak çeşitli türlerin bir araya gelmesiyle oluşan biyofilm olarak adlandırılan organize yapının içinde bulunmaktadır.^(47,48) Bakteriyel gen ekspresyonunun, biyofilm oluştuktan sonra belirgin bir şekilde farklılaşabileceği belirtilmiştir. Böylece mikroorganizmaların mukoza ve/veya diş yüzeyine bağlandıktan sonra köklü olarak farklı bir fenotipe sahip olmasına olanak sağlamaktadır.⁽⁴⁸⁾ Bu durumda biyofilmin özellikleri bileşen topluluğun özelliklerinden daha farklı olabilmektedir.⁽⁴⁹⁾ Biyofilmlerde bulunan bakteriler arasında metabolik değişim, fiziksel temas, küçük sinyal molekülü aracılı iletişim yollarıyla genetik bilgi alışverişi veya yeterli çoğunluğu algılama (Quorum sensing) olarak bilinen etkileşimler meydana gelmektedir.⁽⁵⁰⁾ Konak, biyofilmdeki yerleşik mikroorganizmaların birçoğuna yıkıcı enflamatuvar yanıt oluşturmazken patojenlere karşı da etkili bir savunma yapabilmektedir.⁽⁵¹⁾

Dental biyofilmden diş yüzeyine ilk olarak Actinomiçes türleri ve streptokoklar gibi gram-pozitif fakültatif bakteriler tutunmaktadırlar.⁽⁵²⁾ Sonrasında Fusobacterium nucleatum (F.nucleatum), Porphyromonas gingivalis (P. gingivalis), Tannerella forsythia (T. forsythia), Treponema denticola (T. denticola) ve Aggregatibacter actinomycetemcomitans (A.a.) gibi periodontopatojenler bu bakterilere tutunarak sekonder kolonizasyonu oluştururlar.⁽⁵³⁾ F.nucleatum ilk kolonize olan bakterilerle geç kolonize olanlar arasında bir köprü görevi görmektedir.⁽⁵⁰⁾ Bakterilerin bu şekilde birbirine tutunması "koaggregasyon" olarak adlandırılmaktadır.⁽⁵⁴⁾ Dental biyofilimde başlangıçta baskın flora gram-pozitif aerob bakteriler iken zamanla gram-negatif anaerob bakteriler baskın hale gelmektedir.⁽⁵⁵⁾

Periodontopatojenlerin bazı hastalarda periodontitis gelişmesine neden olurken, periodontitis olmayan hastalarda da tespit edilebiliyor olması, periodontitis gelişiminin bakterilerin varlığından çok, immün yanıt ve enflamasyon sürecinin belirgin bir sonucu olduğunu göstermektedir.⁽⁵⁶⁾

Mikrobiyal ataklara karşı periodontal dokularda ortaya çıkan ilk enflamasyon yanıtı, fizyolojik bir savunma mekanizması olarak düşünülmektedir.⁽⁵⁷⁾ Bu konak yanıtı, bir yandan periodontal dokuları lokal mikrobiyal saldırılara karşı koruyarak derin dokulara patojen mikroorganizmaların yayılmasını önlerken, diğer yandan çevresindeki hücrelere ve ekstraselüler matrikse zarar vererek dişeti, periodontal ligament, sement ve alveoler kemikte yıkıma neden olmaktadır.⁽⁵⁸⁾

Konak savunma mekanizması; enfeksiyonlara karşı ilk koruyucu bariyeri oluşturan ‘doğal immünite’ ve sonrasında işleme daha yavaş katılan ancak enfeksiyonlara karşı daha özgül ve etkin savunma sağlayan ‘kazanılmış immünite’den oluşmaktadır. Doğal immünite; epitelyal bariyer, kompleman sistemi, fagositik lökositler, dendritik hücreler ve doğal öldürücü hücrelerden oluşmaktadır. Kazanılmış immünite, B lenfositlerinin ürettiği antikorların aracılık ettiği humoral immünite ve T lenfositlerinin aracılık ettiği hücresel immüniteden oluşmaktadır.⁽⁵⁹⁾

Doğal immünitede, patojenlerin vücudun hücre ve dokularına girmesini önleyen çok sayıda mekanik, kimyasal ve mikrobiyolojik bariyerler, enfeksiyonlara karşı savunmayı oluşturmaktadır.⁽⁶⁰⁾ Doğal immünite doğuştan itibaren mevcuttur, daha önce karşılaşılan patojenler sonucunda gelişmez ve enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattını oluşturur.⁽⁶¹⁾ Enfeksiyon ve enflamasyona karşı ani koruma sağlayan bu cevap,⁽⁶⁰⁾ mikroorganizmaların ve yabancı ürünlerinin makrofajlar ve nötrofiller tarafından fagositozu ve sindirimi ile karakterize, nonspesifik bir durumdur. Hızlı olma avantajına karşın, özgüllükten yoksundur ve konağın zararına sebep olabilir.⁽⁶²⁾ Doğal immün sistem, immün sistem hücrelerinin toplanmasında, kompleman sisteminin aktivasyonunda, yabancı maddelerin tanınmasında ve ortadan kaldırılmasında ve kazanılmış immün sisteminin aktivasyonunda görev alır.⁽⁶⁰⁾

Enflamasyonun başlaması ile birlikte vasküler değişiklikler ve kompleman sistem aktivasyonu gerçekleşir. Kompleman sistem de C3a, C4a, C5a gibi anaflatoksinleri üreterek lökositlerin ve mast hücrelerinin degranüle olmasını sağlar. Böylece vasküler değişiklikleri dolaylı yoldan tetikleyerek, immün sisteme ait koruyucu hücrelerin ve mediyatörlerin kandan dokulara geçişini sağlar. Ayrıca bu proteinler direk olarak bakterileri öldürebilme özelliğine de sahiptir.^(44,63) Makrofaj ve nötrofil gibi fagositler bakteri yüzey moleküllerini tanıyan ve bu yüzeylere bağlanan reseptörlere sahiptir.⁽⁶⁴⁾ Toll-like reseptörler (TLR) içeren bu tanıyıcı reseptörler

konak ve bakteriyi birbirinden ayırt edebilme özelliğine sahiptir.⁽⁶⁵⁾ TLR, yüksek pro-enflamatuar sitokin seviyelerinin üretimini artırarak, kronik enflamasyon ve otoimmünitede önemli bir rol oynarlar.⁽⁶⁶⁾ TLR, transmembran glikoproteinleridir⁽⁶⁷⁾ ve profesyonel fagositler (örn., nötrofiller, makrofajlar ve dendritik hücreler) tarafından artırılırlar.⁽⁶⁸⁾ Gingival epitelyal hücreler, mikrobiyal invazyonu ilk tespit eden TLR 2, 3, 4, 5, 6 ve 9'u eksprese ederler. Bu TLR, ilgili patojen-ilişkili moleküler modellere (örn., lipopolisakkarit (LPS), peptidoglikan, flagelline, bakteriyel DNA ve nükleik asitler) bağlandıklarında, antimikrobiyal peptitler ve pro-enflamatuar sitokinler serbest bırakılır.⁽⁶⁹⁾

Kompleman sistem, periodontopatojenleri kontrol etmede başarılı olamazsa, doğal immün sistemin hücreleri olan nötrofiller, periodontal enfeksiyonun akut döneminde endotellerden göç ederek periodontopatojen bakterilere karşı verilen konak savunmasının ilk hattını oluştururlar. Periodontal enfeksiyonun akut döneminde mikrobiyal tehdide karşı en önemli lokal yanıt, endotellerden göç eden çok sayıda nötrofil tarafından verilir. Enflame damarı terk eden nötrofiller, kemoatraktan yoğunluğunu takip ederek damar epitelinden çıkar, bağ dokusu boyunca ilerler ve diş eti oluğunda birikerek subgingival plak ve gingival doku arasında bir bariyer meydana getirir. Fagositik hücreler olan monositler ise, konak savunmasının 2. hattını oluştururlar ve sadece enfeksiyonun devam ettiği, nötrofillerin etkisiz kalmaya başladığı durumlarda aktive olurlar.⁽⁷⁰⁾ Aktive olan monositler endoteli geçtikten sonra bağ dokusuna yerleşerek makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar, konak cevabını, akut enflamatuar durumdan, immün sisteme ait aracı moleküllerin şekillendirdiği kronik bir patolojiye dönüştürür. Bu durum, periodontal hastalığın ilerlemesinde anahtar rol oynar. Sağlıklı dokuda çok az sayıda olan makrofajların, bakteriyel tehditle birlikte sayıları artar.⁽⁷¹⁾ Bu hücreler, fagositik kapasitelerinin yanı sıra, antijenlerin tanınması ve immün cevabın oluşması; tamirde rol alan medyatörlerin ve IL-1 β , TNF- α ve IL-6 gibi güçlü pro-enflamatuar sitokinlerin üretimi gibi fonksiyonlara sahiptirler. Bu sitokinler, periodontal lezyonlara komşu bölgelerde DOS içerisinde lokalize olurlar ve matriks metalloproteinazların (MMP), prostaglandinlerin ve osteoklastların üretimini başlatarak yıkıma katkıda bulunurlar.⁽⁷²⁾

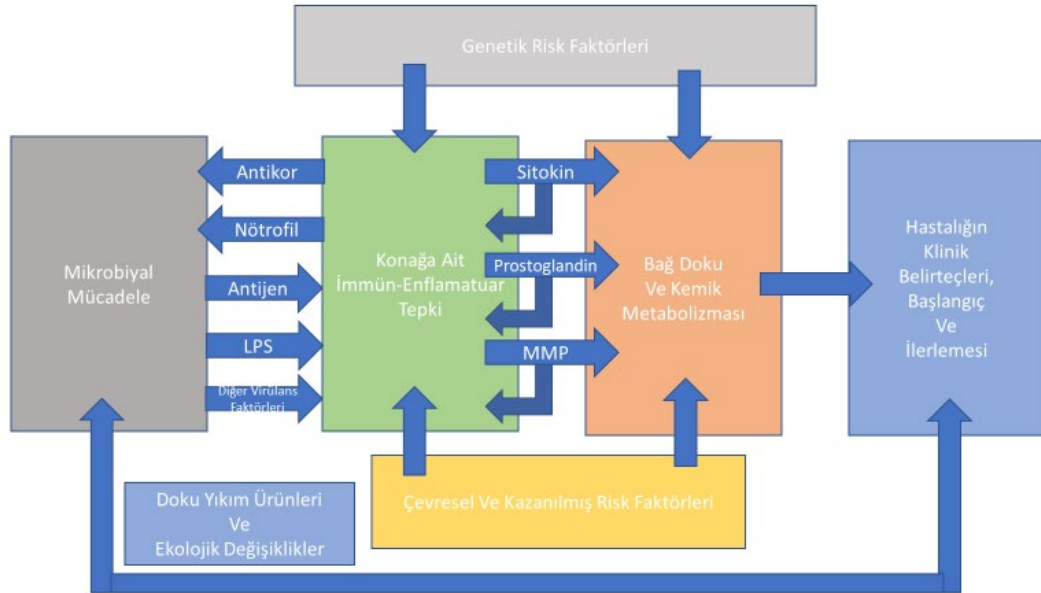
Kazanılmış immünite, doğal immünitinin yetersiz kaldığı enfeksiyonlara karşı görev alır. Kazanılmış immünite, antijen sunan hücreler ile T, B lenfositleri arasındaki etkileşimlere dayanır.⁽⁷³⁾

Patojenlere karşı kazanılmış immün yanıtın oluşturulmasında, özellikle antijen sunan dendritik hücreler olmak üzere, doğal immün hücrelerin aktivasyonu rol oynar. TLR bir patojen ile etkileşime girdikten sonra, sinyalleşme yolları yoluyla dendritik hücrelerin aktivasyonunu sağlar. Bu aktivasyon T hücrelerin hazırlanması ve farklılaşması için kritik öneme sahip yardımcı uyarıcı moleküllerin, sitokinlerin ve kemokinlerin üretimini sağlar.⁽⁷⁴⁾ Gingivitiste ve stabil periodontal lezyonlarda periodonsiyumdaki lökosit popülasyonu çoğunlukla T hücrelerinden oluşmaktadır ve bu T hücreleri biyofilmin mikrobiyal saldırısı karşısında doku homeostazını etkin olarak korumaktadır.⁽⁷⁵⁾ Aktif periodontitiste, B hücreleri ve plazma hücreleri baskın olup, cep oluşumu ve hastalığın ilerleyişi ile ilişkilidirler.⁽⁵⁹⁾

T hücreleri, koruyucu immünite ve doku homeostazının korunmasında önemli rol oynar.⁽⁷⁶⁾ T hücre popülasyonları, geniş bir sitokin yelpazesini salgılayan ve hem doğal hem de kazanılmış immün yanıtın diğer bileşenlerini aktive eden CD4⁺ T-yardımcı hücreleri ve enfekte olmuş hücreleri yıkan CD8⁺ sitotoksik T hücrelerinden oluşur.⁽⁷⁷⁾ Antijenik stimulasyondan sonra aktive olan CD4⁺ T hücreleri yardımcı T hücre 1 (Th1) ve 2 (Th2) olmak üzere farklı etkilere sahip iki hücre grubuna farklılaşır. Th1, ağırlıklı olarak hücresel immün yanıtı kontrol ederken; ikincil olarak da B lenfositlerin ve plazma hücrelerinin baskılanmasında görev alır. Th1 tip fenotip, karakteristik olarak hücresel immünite ile ilişkili ve pro-enflamatuar özelliklere sahip iken Th2, humoral immünite ile ilişkilidir ve anti-enflamatuar özellik gösterir. Th2, B hücrelerini indükler ve ikincil fonksiyon olarak da T hücre ilişkili cevapları baskılar, ayrıca mikroorganizmaların eliminasyonunda görev alır. T ve B hücreleri, makrofajları destekleyerek ve öldürücü hücre oluşumuna yardım ederek immün cevabı artırır.^(60,78)

B hücreleri, antijen sunan hücrelerle etkileşir, aktive olur, çoğalır, enfeksiyon bölgesine göç ederler. B hücreleri ve plazma hücreleri, bakteriyel adhezyonu önleme, bakteriyel toksinleri inaktive etme ve polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından fagositoz için opsonin olarak davranma gibi çeşitli yöntemlerle konakçıyı koruyan immünoglobulinleri salgırlar.⁽⁷⁹⁾

Kısaca, periodontal hastalığın gelişmesi ve ilerlemesi mikrobiyal birikim ve immün sistem arasındaki etkileşimlerin bir sonucudur. Hastalığın meydana gelmesi için sadece mikrobiyal birikim değil, hastalığa duyarlı olan bir konak da gereklidir. Bu durum mikrobiyal biyofilm ve konak immün yanıtı arasındaki etkileşimi de vurgulamaktadır. Periodontopatojenlere karşı konak savunması için nötrofil migrasyonu, antikor üretimi, kompleman aktivasyonu ve pro-enflamatuar sitokin aktivitesi sonrası MMP'lerin salınmasıyla bağ doku ve kemik kaybı ortaya çıkar.⁽⁸⁰⁾ Bu sırada enflamasyonun çözülmesi ve konak hasarının sınırlandırılması için anti-enflamatuar sitokinler ve MMP doku inhibitörleri (TIMP) de sentezlenmektedir.⁽⁸¹⁾(Şekil 2.1.)



Şekil 2.1. Periodontitis Patogenezi ⁽⁸²⁾

Dental biyofilmdeki bakteriler tarafından oluşturulan mikrobiyal mücadele sonucu; artmış enflamatuar sitokin, prostoglandin ve MMP'lerle karakterize konak-immün enflamatuar cevabı meydana gelir. Bu artmış pro-enflamatuar mediatörler periodontal yıkımın çoğundan sorumludur. Bu değişiklikler zamanla periodontal hastalıkların klinik bulgu vermesine, başlamasına, ilerlemesine sebep olur. Bu süreç, çevresel ve kazanılmış faktörler ile genetik yatkınlıkla modifiye edilir.⁽⁸²⁾

2.3. DOS

DOS kan plazmasından oluşan, dişeti oluğunda farklı içeriklere sahip eksuda özelliklerini taşıyan biyolojik bir sıvıdır.^(83,84) Düşük hacimlidir ve mikrolitre (µl)

miktarlarındadır. Sıklıkla dişeti ve periodontal dokularda oluşan enflamasyon ile artar.⁽⁸⁵⁾

DOS oluşumu ile alakalı birçok teori ortaya atılmıştır, fakat en çok kabul gören 2 teori Alfano ve Pashley'in teorileridir. Alfano DOS oluşumunu osmotik basıncın oluşumu ve klasik enfeksiyonun başlangıcı olarak 2 farklı mekanizma ile ilişkilendirmiştir. Bu teoriye göre dişteki subgingival plakta bulunan makromoleküllerin, bazal membran ve hücreler arası alanda yoğunlaşması sonucu basınç artışı gerçekleşir. Bu basınç artışı, osmotik basıncı değiştirerek sıvı akışını başlatabilir. Plagın ortamdan uzaklaştırılmaması sonucu makromoleküllerin antijenik, toksik ve enzimatik aktivitesi sonucu bölgede klasik enflamatuar eksuda meydana gelir. Bunu takiben sıvının içeriğinde de değişimler meydana gelir. Pashley'in teorisinde ise DOS'un varlığı sıvının kapillerlerden dokuya geçişi ve interstisyel sıvının dişeti lenfatikleri tarafından bölgeden uzaklaştırılması arasındaki dengeye bağlıdır. Bu denge kapiller, lenfatik ve interstisyel sıvıdaki osmotik ve hidrostatik basınç tarafından kontrol edilmektedir.^(86,87)

Serum, elektrolitler, küçük organik moleküller, proteinler, sitokinler, spesifik antikorlar, bakteriyel antijenler ile konak ve bakteri orjinli enzimlerden oluşan bu kompleks sıvı, periodontal hastalıkların incelemesinde önemlidir. DOS'un içeriğindeki bu maddeler periodontal hastalığın ve tedaviden sonra görülen iyileşmenin bir belirteçidir.⁽⁸⁸⁾ Periodontitisin ilerlemesi için olası belirteçler olarak 65'den fazla DOS bileşeni, önceden incelenmiştir ve 3 kategoriye ayrılmıştır;⁽⁸⁵⁾

- Konaktan kaynaklı enzimler ve inhibitörleri
- Enflamatuar mediatörler ve konak yanıtı düzenleyiciler
- Doku yıkım ürünleri

DOS içeriğinin analiz edilmesi, periodontal hastalıkla alakalı biyomarkerların tespitinde ve bunların konak-mikroorganizma etkileşimindeki rolünü belirlemede büyük öneme sahiptir.⁽⁸⁹⁾ DOS'da yapılabilen incelemeler; kompleman ve immunglobülinlerin (Ig) varlığı ve aktivasyonu ile ilgili mekanizmalar, kollajenolitik enzimler ve inhibitörlerin saptanması, lizozomal enzimlerin incelenmesi, aspartat aminotransferaz ve laktat dehidrojenaz gibi hücre lizisi ve doku yıkımının belirleyicisi olan enzimlerin tayini, lizozim, peroksidaz, laktoferrin gibi antibakteriyel faktörlerin incelenmesi, Prostaglandin E₂ (PGE₂), IL ve TNF gibi

sitokinlerin varlığı ve seviyelerinin belirlenmesi, hidroksipirolin gibi son yıkım ürünlerinin incelenmesini içerir.⁽⁹⁰⁾

Sağlıklı dişetine sahip bireylerde DOS miktarı oldukça azdır, periodontal dokulardaki enflamasyona bağlı olarak DOS miktarlarında artış meydana gelmektedir.⁽⁸⁴⁾ DOS hacminin ve akış oranının ölçümü; kanama ve renk değişimi gibi ölçümlerden daha önce oluşabilecek bir enfeksiyon belirtisi olarak göz önüne alınabilir.⁽⁹¹⁾ DOS akış ölçümleri sağlıklı durumda 3-8 µl/saat, orta şiddette periodontal hastalığa sahip olan bireylerde ortalama olarak 20 µl/saat ve ilerlemiş periodontal hastalığı olan bireylerde 137 µl/saat olarak gözlemlenmiştir.⁽⁸⁴⁾

DOS miktarı çeşitli durumlarda artmaktadır; enflamatuar dişeti hastalıklarında DOS miktarı artarken, hastalığın tedavi edilip iyileşmenin görülmesiyle miktar azalmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda diş fırçalama, sert gıdalar çiğneme, ovulasyon dönemlerinde ve oral kontraseptif kullanımında da artış gözlenmektedir.^(84,92,93) Bunun yanında anatomik bölgeye bağlı olarak da DOS miktarı değişebilir. Posterior alanlarda anterior alanlardan, mandibuler alanlarda maksiller alanlardan ve interproksimal alanlarda fasiyal alanlardan daha fazla DOS miktarı bulunduğu bildirilmektedir.⁽⁹⁴⁻⁹⁶⁾

Dental biyofilm sürekli olarak serum kaynaklı hümmoral ve hüccresel konak yanıt bileşenlerini içeren bir DOS akışına maruz kalmaktadır.⁽⁸³⁾ DOS akışı, bakteri ve bakteri ürünlerini sulkustan yıkayarak uzaklaştırır ve bu şekilde konak savunmasına katkıda bulunur.⁽⁹⁷⁾ Sulkusun yıkanmasının yanında DOS, içerdığı doğal ve kazanılmış immün hücreler sayesinde koruyucu mekanizmalar ile homeostazın oluşturulmasına da yardımcı olmaktadır.⁽⁸³⁾ DOS antibakteriyel etkiye sahiptir, ayrıca antibiyotikler gibi sirkülasyonda olan maddeleri ve konak kaynaklı antibakteriyel maddeleri dişeti oluğu bölgesine taşır. Bunun dışında DOS içinde bulundurduğu plazma proteinleri sayesinde, epitelyal ataşmanın dişetine adezyonunu artırır.⁽⁸⁴⁾ DOS akışı enflamatuar durumlarda artış gösterir. Anti-enflamatuar özelliğe sahip olan DOS, tükürüğe karışarak ağız boşluğuna geçer ve genel ağız savunmasına da katkıda bulunur.⁽⁹⁸⁾

DOS'un tüm koruyucu fonksiyonları yanında bakteriler için besin ögesi sayılabilecek maddelere sahip olduğundan da bahsedilmektedir.⁽⁴⁸⁾ DOS'un esas olarak konak

hücreleri için uygun ortamı sunuyor olmasıyla birlikte, subgingival bakteriler için de mükemmel bir besin kaynağı olabileceği ve bazı patolojik bakteri türlerinin gelişmesi için gerekli faktörleri içerebileceği düşünülmektedir.⁽⁹⁹⁾

Hayvan çalışmalarında dişeti sulkusuna yerleştirilen filtre kağıdında, sistemik dolaşıma enjekte edilen bir boyanın tespit edilebildiği gösterilerek potansiyel tanı değeri ortaya konulan DOS, bağ dokunun durumu ve sert doku yıkımının derecesi de dahil olmak üzere periodontal dokunun durumu hakkında bilgi sağlamak için kullanılan, toplanması ve analizi en atravmatik olan araştırma yöntemleri arasındadır.⁽¹⁰⁰⁾ Doku metabolizmasında, enflamatuvar hücrelerde, iyileşmede ve bağ dokusunun yeniden oluşumunda, subklinik değişikliklerin saptanmasında kullanılabilir.⁽⁸⁹⁾ Periodontal hastalığın ilerlemesi sırasında DOS içeriğinde belirgin değişiklikler olmakta ve sitokinler, proteinler, proteinazlar, fosfatazlar ve lokal doku yıkım ürünleri gibi sayısız hücre ve enflamatuvar faktörler, bu biyolojik sıvı içinde yer almaktadır. DOS elde etme yöntemlerinin, non-invaziv olması, tek hastadan birden çok örnek toplanabilmesi ve bölgeye özgü bilgi vermesi gibi avantajlarından dolayı, analizler için tercih edilebilirliği artmaktadır. Dezavantajları olarak, teknik hassasiyet gerektirmesi ve toplanabilen DOS hacminin az olması gösterilebilir.⁽¹⁰¹⁾ DOS'un toplanması amacıyla çeşitli teknikler bulunmaktadır, bu teknikler başlıca 3 gruba ayrılmaktadır;

Dişeti yıkama yöntemi; Bu yöntem iki farklı şekilde uygulanmıştır. Her iki uygulamadaki temel yaklaşım, dişeti oluşunun belli miktarda bir sıvı ile yıkanması ve bu sıvının tekrar toplanmasıdır. İlk uygulamada rulo pamuklar ile izole edilen örneklem bölgesi özel bir solüsyon ile yıkanır ve bir mikro şırınga ile DOS ve bölgeye verilen sıvı toplanır.⁽¹⁰²⁻¹⁰⁴⁾ İkinci uygulamada ise, içerisinde tüpler içeren akrilik plak bireye özel olarak hazırlanır. Dişeti oluşu yıkandıktan sonra plaklardaki tüpler ile DOS ve sıvı toplanır. Bu yöntemde en büyük dezavantaj yıkama sonrası sıvı tam olarak toplanamayabilir. Sonuç olarak elde edilen DOS örneğinin hacmi ve içeriği gerçek durumu yansıtmayabilir. Ayrıca ikinci uygulamada bireye özel plak hazırlanması da bir dezavantajdır.⁽¹⁰³⁾

Mikro pipetler (kapiller tüpler) yöntemi; Örnek alınacak bölge izole edilip kurutulduktan sonra çapı ve hacmi belirli olan mikro pipetler dişeti oluşu içerisine yerleştirilir ve oluktan gelen DOS pipet içerisine akar. Bu yöntem hacmi doğru

olarak belirleyebildiğinden ve DOS'un seyreltilmemiş bir örneğini elde etmeye olanak sağladığından ideal bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Fakat bu yöntemde ilave hassas ekipmanlara gerek duyulması ve enflamasyonun olmadığı bölgelerde yeterli hacimde DOS miktarına ulaşmak için uzun sürelerle ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları vardır.⁽¹⁰³⁾

Kağıt strip yöntemi; Literatürde en sık kullanılan teknik, kağıt strip yöntemidir ve oluk içi ve oluk dışı olmak üzere iki şekilde uygulanabilmektedir.⁽¹⁰⁵⁾ Oluk dışı uygulamada kağıt strip dışın bukkal yüzeyine marjinal ve yapışık dişetinin üzerine dişeti oluşunun girişine yakın şekilde konumlandırılmaktadır.⁽¹⁰⁶⁾ Stripin konumundan ve örnekleme süresinin uzun olmasından dolayı, bu teknikte tükürük ve plak kontaminasyonunda artış gözlemlenmektedir. Oluk içi yöntem ise kendi içinde ikiye ayrılmaktadır; ilki kağıt stribin oluk içinde tabanda direnç hissedilene kadar ilerletildiği 'derin oluk içi' yöntemidir.⁽¹⁰⁷⁾ Fakat bu tekniğin mekanik irritasyona ve sıvı hacminde artışa sebebiyet verdiği bildirildiğinden son yıllarda araştırmacılar kağıt striplerin sulkus içerisine yaklaşık 1 mm derinlikte konumlandırıldığı diğer bir oluk içi yöntem olan 'yüzeyel oluk içi' veya 'orifice yöntemini' tercih etmektedirler.⁽¹⁰⁸⁾ Literatürde, DOS örnekleme süreleri standart değildir, saniyeler ile birkaç dakika arasında değişir ve ideal bir süre tanımlanmamıştır. Ancak, örnekleme süresinin uzaması mekanik irritasyon ve kontaminasyon riskini artırmaktadır.⁽¹⁰⁹⁾ Sıvı hacminin belirlenmesinde kağıt striplerin ninhidrin ile boyanmasını takiben mikroskop ile direkt incelemesi, striplerin tartılması veya hacmin periotron cihazı yardımı ile ölçülmesi gibi farklı yaklaşımlar bulunmaktadır.⁽¹¹⁰⁻¹¹²⁾

2.4. Sitokinler

Sitokinler, yapısal ve enflamatuvar hücreler gibi çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen, hücre fonksiyonunun aracı molekülleri olarak görev yapan, homotipik ve heterotipik hücre grupları arasında karmaşık bir iletişim ağının korunmasından sorumlu çözünebilir proteinlerdir.⁽¹¹³⁾ Çoğunlukla kendilerine özgü yüzey reseptörleriyle etkileşime girerek immün süreçte görev alan hücre düzenleyicileridir.⁽¹¹⁴⁾ Sitokinlerin proliferasyon, büyüme, farklılaşma, homeostaz, rejenerasyon, tamir ve enflamasyon olaylarını kapsayan önemli biyolojik görevleri vardır.⁽¹¹³⁾ Herhangi bir sitokinin etkisi, salınımının zamanlamasına, içinde bulunduğu bölgeye, antagonist veya sinerjist moleküllerin varlığına, sitokin reseptörü yoğunluğuna ve her sitokin için doku yanıtına bağlıdır.⁽¹¹⁵⁾

Bir hücre tarafından salgılanan sitokinin aynı hücre üzerine etki etmesi ‘otokrin etki’, komşu hücreler üzerine etki etmesi ‘parakrin etki’ ve hormonlar gibi dolaşıma katılarak diğer doku ve organlara etki etmesi ‘endokrin etki’ olarak tanımlanır. Bir tür sitokinin birden fazla hücreye etki etmesine ‘pleiotropik etki’ denir.⁽¹¹⁶⁾ Sitokinler; makrofajlar, lenfositler ve nötrofiller gibi immün sistem hücrelerinin yanı sıra endotel hücreleri ve fibroblastlar tarafından da salgılanırlar.⁽¹¹⁷⁾ Belli bir sitokin, çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır fakat aynı biyolojik etkiyi gösterir.⁽⁵⁶⁾

Belli bir biyolojik etkiyi sağlamak için gerekli sitokin miktarı genellikle çok düşüktür. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Bu etkilerin bazıları hemen başlarken, bazıları ise saatler hatta günler sonra oluşabilir.⁽¹¹⁷⁾ Kısa yaşam süreleri, plazma konsantrasyonlarının düşük olması ve birçok sitokinin birçok hücreden salınıyor olması izolasyonlarını ve karakterlerinin anlaşılmasını zorlaştırır. Sitokinler vücutta depolanmazlar ve immün stimülasyona cevap amacıyla her defasında yeniden üretilirler. Sitokinlerin salınımları kısa etkilidir ve kendi kendini sınırlandıran bir olaydır. Bazı sitokinler belirli bir hücre tarafından üretilirken diğer sitokinler birçok hücre tarafından üretilir. Örneğin; IL-2 sadece T hücreleri tarafından üretilirken, IL-1 ve IL-6 birçok hücre tarafından üretilmektedir.⁽¹¹⁶⁾

Sitokinler çeşitli özelliklerine göre sınıflandırılabilirler. Fonksiyonlarına göre sitokinlerin sınıflandırılması Tablo 2.4.’te gösterilmiştir.⁽¹¹⁸⁾

Tablo 2.4. Fonksiyonlarına Göre Sitokinlerin Sınıflandırılması⁽¹¹⁸⁾

Sitokin Ailesi	Üyeleri
Pro-enflamatuar	IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6
Anti-enflamatuar	IL-1Ra, IL-4, IL-10
Kemotaktik	IL-8, MIP-1, MCP-1, RANTES
Büyüme Faktörü	PDGF, EGF, FGF, IGF, VEGF
İmmün Düzenleyici	IFN- γ , IL-2, 4, 5, 7

Epidermal Growth Factor (EGF); Fibroblast Growth Factor (FGF); Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF); Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF); Interferon(IFN); Insulin-Like Growth Factor (IGF); İnterleukin (IL); Interleukin-1 Receptor Antagonist (IL-1Ra); Monocyte Chemotactic Protein (MCP); Macrophage Inflammatory Protein (MIP); Platelet Derived

Growth Factor (PDGF); Regulated Upon Activation, Normal T Cell Expressed And Secreted (RANTES); Tumor Necrosis Factor (TNF); Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

Periodontal hastalıklar, diş yüzeyinde ve gingival sulkusta biriken bakterilerce başlatılsa da, bağ dokusu ve kemik yıkımı ile hastalığın ilerleyişinde ana rol konak cevabına aittir. Periodontal doku kaybının seviyesi, doku yıkımını stimüle eden ve inhibe eden sitokinlerin arasındaki dengeye bağlıdır.⁽⁷¹⁾

Hayvanlar ve insan dokuları üzerinde yapılan bir çok in vivo ve in vitro çalışmada periodontal hastalıkta immün cevabın her aşamasında sitokinlerin anahtar rol oynadığı ortaya konmuştur.^(79,113,119)

Periodontitis spesifik bakterilere karşı, IL-1, IL-6, IL8, IL-10, IL-12 ve TNF α gibi sitokinlerin ve enflamasyon medyatörlerinin salınımını kapsayan lokal konak yanıtıyla gelişmektedir.⁽¹²⁰⁾ Enflamasyon kaynaklı üretilen sitokinler kendilerine karşı oldukça duyarlı olan epitel, dişeti, periodontal ligament ve kemik hücrelerini etkileyerek enflamasyon ve doku yenilenmesi süreçlerinde aktif rol oynamaktadırlar.⁽⁵⁶⁾ Enflamatuar hücreler, ortamda bulunan biyoaktif moleküller ve mikrobiyal ilişkili moleküler paternler (MAMP) tarafından aktive edildikten sonra, periodonsiyumdaki dokuların homeostazını etkileyen çeşitli enflamasyon medyatörlerini üretirler.⁽¹²¹⁾ Periodontal dokulardaki enflamatuar uyaranlara yanıt olarak hastalıklı alanlarda yoğun olarak bulunan nötrofiller, monositler/makrofajlar, dendritik hücreler, T ve B lenfositleri tarafından TNF- α , IL1- β , IL-6, IL-7, IL-11 ve IL-17 gibi pro-enflamatuar sitokinler ile PGE₂ gibi periodontal kemik remodelasyonunda patolojik sonuçlara yol açan çeşitli sinyal molekülleri üretilmektedir.⁽¹²²⁾ IL-4, IL-10, IL-13, IL-16, interferon- β / γ , TGF- β , IL-1Ra, GM-CSF gibi sitokin yapısındaki moleküller anti-enflamatuar süreçleri düzenlemektedirler.⁽¹²³⁾

Periodontal hastalıkların klinik belirtilerinin ve semptomlarının ortaya çıkmasına neden olan yıkımın başlıca belirleyicisi pro-enflamatuar ve anti-enflamatuar sitokin aktiviteleri arasındaki dengesizliklerdir.⁽¹²⁴⁾ Enflamatuar ortamlarda uygun sitokinlerin salınımı koruyucu mekanizmaları devreye sokarken; uygun olmayan sitokinlerin salınımı ise yıkıcı mekanizmaları başlatarak hastalıkların ilerlemesine sebep olabilir.⁽⁷⁹⁾

2.4.1. IL-1

IL-1 sitokin ailesinin içerisinde IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-33, IL-36Ra, IL-36 α , β , γ , IL-37 ve IL-38 olmak üzere 11 sitokin bulunur.⁽¹²⁵⁾ IL-1, esas olarak monositler, makrofajlar ve PMNL tarafından üretilmekle beraber, fibroblastlar, keratinositler, B hücreleri, osteositler, ve birçok epitel hücresi tarafından da üretilen akut ve kronik enflamasyonda görev alan çok fonksiyonlu bir sitokindir.⁽¹²⁶⁾ Antijenler, çeşitli enflamatuvar ajanlar, lenfokinler, mikroorganizmalar ve onların ürünleri IL-1 salınımını etkileyen ajanlardan bazılarıdır.⁽¹²⁷⁾

IL-1 farklı hücreler üzerinde değişik etkiler gösterir. Prostaglandinler, trombosit-aktif edici faktör ve diğer sitokinler gibi enflamatuvar moleküllerin sentezini ve endotelial hücre adezyon moleküllerinin düzenlenmesini sağlayarak, doğal immün yanıtta katkıda bulunur. Aynı zamanda immün hücre adezyonu ve proliferasyonu, doku yıkımı, kemik rezorpsiyonu, vasküler düz kas hücre kasılması, kan basıncının ve merkezi sinir sistemi fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi bir çok olayda da önemli rol oynamaktadır. Tüm bu etkileri nedeniyle IL-1; romatoid artrit, alzheimer, diyabet ve periodontitis gibi birçok kronik hastalık için anahtar sitokin olarak kabul edilmektedir.^(128,129)

IL-1 α , genellikle hücre membranı ile ilişkide olup kan dolaşımı ve hücre dışı ortamda bulunma sıklığı azdır. Nekroz, apoptozis gibi hücre bütünlüğünün bozulduğu durumlarda salınır. IL-1 α , enflamasyonla ilişkili kemik kaybını içeren en güçlü kemik rezorbe edici faktörlerden biridir.

Periodontal patogenezdaki yeri tam olarak belirlenememiştir, ancak günümüze kadar yapılan çalışmalarda gingival dokularda ve DOS'taki IL-1 α seviyesinin periodontitisli hastalarda yükseldiği rapor edilmiştir. Gingival dokularda ölçülen IL-1 α seviyesi, hasar gören veya nekrotik hücrelerden salınan hücre içi IL-1 α ile ilişkili bulunduğundan periodontal patogeneze ve kemik rezorpsiyon aktivitesiyle ilişkili bir sitokin olabileceği düşünülmüştür.^(130,131)

IL-1 β çok fonksiyonlu bir sitokin olup, akut ve kronik enflamasyonlarda önemli görevleri vardır. Sıklıkla monosit/makrofaj, nötrofiller tarafından üretilirken, epitel hücreleri, keratinositler, fibroblastlar, B lenfositler ve osteositler tarafından da üretilmektedir.⁽¹³²⁾

IL-1 β ; bakterilere, bakteriyel ürünlere, kompleman faktörlerine veya doku hasarına yanıt olarak sentezlenir. Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozisi gibi çeşitli hücrel aktivitelere ilişkilidir. T-lenfositlerin uyarılması ve lenfokin üretimi, B-lenfositlerin proliferasyonu ve antikor üretimi, fibroblast proliferasyonu, monosit ve fibroblastlar tarafından salınan PGE₂ stimülasyonu, ekstraselüler matriks proteinlerini çözen metalloproteinazların üretilmesinde görevlidir. Fibroblastlara bağlanarak bağ dokusundaki kollajeni yıkan kollajenaz enziminin salınımına neden olur. Aynı zamanda osteoklast oluşumuna neden olarak kemik rezorpsiyonunu kolaylaştırır ve nötrofil kemotaksisi ve aktivasyonunu etkiler.^(133,134)

Enflamasyon ile ilişkili birçok hastalığın temel etyolojik sebebi olan IL-1 β , periodontal dokularda immün yanıtların başlatılmasında ve düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadır.⁽¹³⁵⁾ Özellikle Gram (-) bakteriler tarafından sentezlenen lökotoxin ile uyarıldığında; sadece osteoklast aktivasyonuna neden olmakla kalmayıp, aynı zamanda MMP aktivasyonu, PMNL, serin proteinaz, fagositik yol gibi çeşitli mekanizmalarla da bağ dokusunun hasar görmesine sebep olmaktadır.⁽¹³⁶⁾

DOS'taki IL-1 β seviyesi, dişetin enflame ve periodontal doku yıkımının olduğu alanlarda artmaktadır. Periodontopatojenlerin yapısında mevcut olan LPS'ler periodonsiyumda IL-1 β sentezini artırır ve kemik rezorpsiyonuna neden olur. Periodontal dokularda enflamasyon seviyesinin azalması ile birlikte IL-1 β seviyelerinin de azaldığı tespit edilmiştir.⁽¹³⁷⁾

2.4.2. IL-39

İnterlökin-12 ailesi sitokinleri, immün yanıtın kritik düzenleyicileri olarak ortaya çıkmıştır, bazı üyeleri (IL-12, IL-23) hastalık patogenezi ile ilişkili iken, bazıları (IL-27, IL-35) otoimmün hastalıkları baskılanmasında yer alırlar. IL-12 ve IL-23, Th1 ve Th17 lenfositlerinin farklılaşmasını indükleyerek, otoimmün hastalıkların patogenezinde önemli roller oynar. IL-27 ve IL-35 ise enflamatuar yanıtları baskılar ve düzenleyici T ve B hücrelerinin üretimini teşvik ederek doku hasarını sınırlar.^(138,139)

IL-39, 2016 yılında keşfedilen IL-12 ailesinin en yeni üyesidir.⁽¹⁴⁾ IL-12 aile üyeleri, her üyenin iki farklı alt birimden veya α veya β alt biriminin diğerleri arasında paylaşıldığı heterodimerlerden oluşmaktadır.⁽¹⁴⁰⁾ α - alt birimleri arasında p19 (IL-23

/ IL-39), IL-27p28 (IL-27) ve p35 (IL12 / IL-35), β - alt birimleri arasında p40 (IL-12 / IL-23) ve EBI3 (IL-27 / IL-35 / IL-39) bulunur.⁽¹⁴¹⁾

IL-39, IL-23p19 alfa alt birimi ve EBI3 beta alt biriminden oluşan bir heterodimerdir, insan kromozomu 17q25.3 üzerinde kodlanmıştır. Aktive edilmiş B hücreleri tarafından üretilir, LPS stimülasyonundan sonra IL-39 üretimi B hücrelerinde artmaktadır. Ayrıca dendritik hücreler ve makrofajlar tarafından da üretildiği bildirilmiştir.⁽¹⁴⁾ IL-39 pro-enflamatuar fonksiyonlara sahiptir.⁽¹⁴²⁾ IL-39'un STAT1/STAT3 aktivasyon yoluyla enflamatuar olaylara aracılık ettiği gösterilmiştir.⁽¹⁵⁾

IL-39'un in vivo ve in vitro nötrofillerin farklılaşmasını ve/veya üretimini uyardığı gösterilmiştir.⁽¹⁶⁾ Yapılan birçok çalışmada, nötrofillerin SLE'nin başlaması ve ilerlemesinde etkili olduğu ve ayrıca bu hastalığı olan bireylerde sıklıkla gözlenen organ hasarına sebep olduğu bildirilmiştir.^(143,144) IL-39 eksikliğinin ise nötrofilleri düzenleyen hücrelerin kapasitesini azalttığı bildirilmiştir.⁽¹⁶⁾ Ayrıca IL-39'un keratinositler tarafından salgılandığı ve yara iyileşmesine katkıda bulunduğu da bildirilmiştir.⁽¹⁴⁵⁾

Oral epitel hücrelerinin, bakteriyel patojen *P. gingivalis*'e yanıt olarak IL-36 γ 'nin üretimini özellikle artırdığı gösterilmiştir.⁽¹⁴⁶⁾ IL-36 γ 'nin, oral epitel hücrelerinden IL-39 üretimini, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) sinyali ile MEK-ERK sinyal iletimine bağlı bir şekilde seçici olarak uyardığı gösterilmiştir. Oral epitel hücrelerinden üretilen IL-36 γ 'nin, kısmen otokrin bir şekilde IL-39'un üretimini uyarak, patojen enfeksiyonlara karşı immün yanıtı düzenleyebileceği bildirilmiştir. Ayrıca oral epitel hücrelerini IL-39'u seçici olarak üretmek için IL-36 α ve IL-1 β 'nın da uyardığı ancak *P. Gingivalis*'in uyarmadığı gösterilmiştir.⁽¹⁴⁷⁾

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na çeşitli periodontal şikayetler ile başvuran 50 periodontal olarak sağlıklı ve 50 periodontitisli toplam 100 bireyin katılımıyla tamamlandı.

3.1. Etik Kurul Onayı ve Resmi İzinler

Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 26.12.2018 tarih ve 902 numaralı kararı ile etik açıdan onaylanmıştır (Ek 1). Çalışmaya katılan bireylere çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi verildikten sonra 'Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu' imzalatılmıştır (Ek 2).

3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

3.2.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- Son 6 ay içerisinde herhangi bir sebeple periodontal tedavi görmemiş olması,
- Son 6 ay içerisinde herhangi bir sebeple antibiyotik tedavisi görmemiş olması,
- Periodontal sağlığı etkileyen herhangi bir sistemik hastalığa sahip olmaması (Kalp hastalıkları, diyabet, kan hastalıkları, vb.),
- Periodontal cep oluşumu bulunan bölgelerde yıkımı artıran lokal faktörlerin olmaması (dolgu, kron),
- Araştırmaya katılmak için gönüllü olması.

Çalışmada yer alan gruplardaki bireylerin belirlenmesinde ve klinik açıdan periodontal teşhis konulmasında, AAP ve EPF tarafından 2017 yılında kabul edilen periodontal hastalıkların ve durumların sınıflandırılması kriterleri esas alınmıştır. Çalışmamıza 2 grup dahil edilmiştir;

Periodontal olarak sağlıklı grup:

Klinik ve radyografik muayene sonucu periodontal olarak sağlıklı 34 bayan 16 erkekten toplam 50 bireyden oluşmaktadır.

Periodontitisli grup:

Radyografide interdental septumda vertikal veya horizontal kemik kaybı olan, en az 4 dişin, toplam en az 6 bölgesinde 5 mm ve/veya üzeri cep oluşumunun bulunduğu 22 bayan 28 erkek toplam 50 bireyden oluşmaktadır.

2: Dişeti cebi ya da diş ve dişeti kenarlarında çıplak gözle görülebilen orta derecede yumuşak plak vardır.

3: Dişeti cebi ya da komşu dişeti kenarında yoğun şekilde yumuşak eklentiler vardır.

3.3.2. Gİ Değerlendirme Yöntemi

Dişeti enflamasyonunun belirlenmesinde Löe-Silness Gİ⁽¹⁴⁹⁾ skorları kullanıldı. Skorların karşılık geldiği klinik durumlar;

0: Sağlıklı dişeti

1: Sondlamada kanama yoktur. Ödem varlığı, hafif enflamasyon, hafif renk değişikliği mevcuttur.

2: Sondlamada kanama vardır. Orta dereceli enflamasyon, dişeti ödemi ve kızarıklık mevcuttur.

3: Spontan kanama vardır. Ülserasyon, şiddetli enflamasyon, belirgin kırmızılık mevcuttur.

3.3.3. SCD Değerlendirme Yöntemi

Williams sondu dişlere paralel tutularak cep tabanında hafif bir direnç hissedilene kadar dişeti oluğu içerisine yerleştirildi. Serbest dişeti kenarı ve sondlanabilen cep tabanı arasındaki mesafe tüm dişlerin altı yüzeyinden (mezio-bukkal, mid-bukkal, distobukkal, mezio-lingual, mid-lingual ve disto-lingual olmak üzere) milimetrik olarak ölçüldü.

3.3.4. KAS Değerlendirme Yöntemi

Tüm dişlerin meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midpalatinal ve distopalatinal olmak üzere 6 bölgesinden Williams periodontal sondu kullanılarak mine-sement sınırdan cep tabanına kadar olan mesafe mm cinsinden ölçüldü.

3.3.5. SK Değerlendirme Yöntemi

Her bir diş için, sondlanabilir cep derinliği ölçüldükten 10-15 saniye sonra gingival sulkusta kanama varlığı pozitif (+), yokluğu ise negatif (-) olarak değerlendirildi. Kanamanın var olduğu diş sayısı, tüm ağızdaki sondlanan diş sayısına oranlanarak SK yüzdesi hesaplandı.⁽¹⁵⁰⁾

3.4. DOS Örneklerinin Toplanması, Saklanması ve Miktarlarının Ölçülmesi

Bireylerin DOS akışını etkilememek amacıyla, DOS örneklerinin alımı, tüm klinik periodontal değerlendirmeler kaydedildikten 24-48 saat sonra yapıldı.^(151,152)

Örnekler, her iki grupta yer alan bireylerin, çok köklü dişlerinden, periodontitisli grupta ise ≥ 5 mm cebin olduğu en derin bölgelerinden alındı. Örnekleme yapılacak dişlerin mesial veya distal yüzeyleri tercih edildi ve ilgili dişlerin üzerinde ve/veya komşu dişlerde çürük, protetik veya konservatif restorasyon bulunmamasına dikkat edildi.

İlgili bölgelerde varsa supragingival plak, dişetinde mekanik travma oluşturmayacak şekilde steril scaler (Hu-Friedy Manufacturing Co. Inc, Chicago, IL, USA) ve/veya gazlı bezler yardımıyla uzaklaştırıldı. Örnek alınacak bölgeler pamuk rulolar yardımıyla izole edildi ve bölge hava spreyi ile travma meydana getirmeyecek şekilde hafifçe kurutuldu. Standart kağıt stripler (PerioPaper® GCF Collection Strips, Oraflow Inc., New York, USA) (Şekil 3.2.) sulkusun içerisine yaklaşık 1 mm girecek şekilde yerleştirildi ve 30 saniye boyunca ‘orifice yöntemi’ ile DOS toplandı. Kan ve tükürük ile kontamine olan kağıt stripler çalışmaya dahil edilmedi. Kağıt stripteki DOS hacmini ölçmek için önceden kalibre edilmiş Periotron® 8010 (Oraflow Inc., New York, USA) (Şekil 3.3) cihazına yerleştirilerek elde edilen değerler kaydedildi. Kağıt stripler önceden numaralandırılmış 1.5 ml’lik eppendorf tüplere konularak analiz gününe kadar -80°C’de muhafaza edildi.

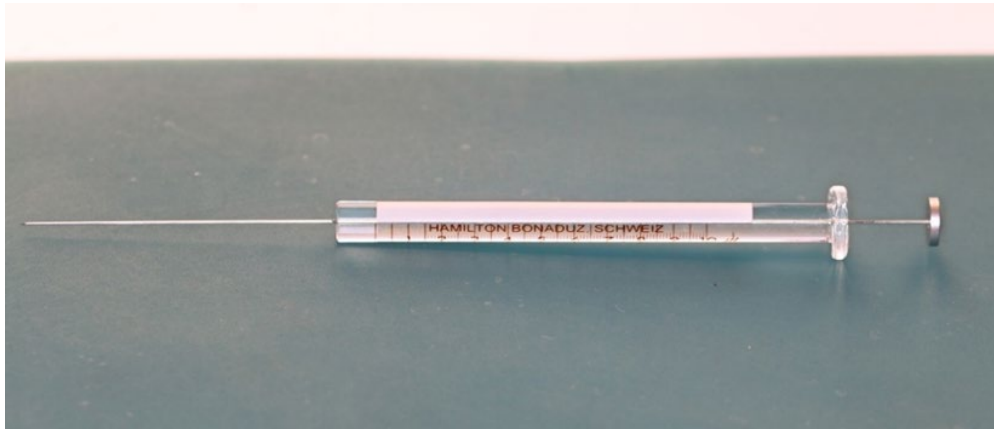


Şekil 3.2. Standart Kağıt Stripler



Şekil 3.3. Periotron® 8010

Periotron skorlarının μl 'ye çevrilmesi için Hamilton #701 (Hamilton Microliter Syringe, Reno, Nevada, USA) (Şekil 3.4) şırıngası kullanıldı. Periotron cihazının standart eğrisinin oluşturulması için 0-0,5 μl aralığında 20 nl artışlarla, 0,5-1,5 μl aralığında 10 nl artışlarla serum fizyolojik emdirilmiş periopaperlar peritron cihazında okutuldu. Ölçüm her bir değer için 3 defa tekrarlandı ve her değer ortalaması alınarak kaydedildi.⁽¹⁵³⁾



Şekil 3.4. Hamilton #701 Şırıngası

3.5. Laboratuvar İşlemleri

3.5.1. DOS Örneklerinin Hazırlanması

Analizlere başlamadan önce donmuş kağıt stripleri içeren eppendorf tüpleri oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Eppendorf tüpleri içerisine 500 µl fosfat tampon (phosphate buffered saline; PBS pH:7.4) eklendikten sonra 1 saat bekletildi.

3.5.2. DOS Örneklerinin Biyokimyasal Analizi

DOS örneklerinin IL-1 β ve IL-39 seviyeleri ölçümü kitlerin alındığı şirket tarafından laboratuvarlarında enzim bağlı immün absorban yöntem ‘Enzym Linked-Immuno-Sorbent Assay’ (ELISA) ile IL-1 β (Human IL-1 β ELISA Kit, İnvitrogen by Thermo Fisher Scientific, Campus Vienna Biocenter 2, 1030 Vienna, Austria), IL-39 (Human Interleukin 39 (IL-39) ELISA Kit instruction, MyBioSource, Inc.P.O. Box 153308 San Diego, USA) için ticari ELISA kitleri kullanılarak gerçekleştirildi.

3.5.3. IL-1 β Miktarının Belirlenmesi

Test prosedürüne başlanmadan reaktifler hazırlandı. Plaka pipetlemeye başlanmadan önce kullanım kılavuzundaki öneriler doğrultusunda 2 kez mikrolaka yıkayıcıda (ELx50™ Microplate Washer, BioTek™ Vermont, USA) (Şekil 3.5.) 400ul yıkama solüsyonu ile yıkandı. Standart kuyucuklarına daha seri dilüsyon ile hazırlanmış standartlardan 100µl eklendi. Örnek için belirlenmiş kuyucuklara 50µl örnek eklendi. Daha sonra örnek kuyucuklarına 50µl sample diluent eklendi. Tüm kuyucuklara 50 µL of Biotin-Conjugate eklendi. 2 saat oda ısısında inkübe edildi. 3 kez mikrolaka yıkayıcı ile plaka yıkaması yapıldı. Her kuyucuğa 100µl HRP-konjugat reaktifi eklendi, plak kapatıcı ile üzeri kapatıldı ve 60 dakika süreyle oda ısısında inkübe edildi. 3 kez mikrolaka yıkayıcı ile plaka yıkaması yapıldı. Her kuyucuğa 100ul TMB solüsyonu eklendi. 10 dakika boyunca renklenme için oda ısısında ve karanlıkta inkübe edildi. Her kuyuya 100µl stop solüsyonu eklendi. Kuyulardaki renk maviden sarıya döndü (Şekil 3.6.). Mikrolaka okuyucu (ELx 800™ Microplate Reader, BioTek™, Vermont, USA) (Şekil 3.7.) kullanılarak 450 nm'de Optik Yoğunluğu (OD) ölçüldü.



Şekil 3.5. ELx50™ Microplate Washer, BioTek™ Vermont, USA



Şekil 3.6. Stop Solüsyonunun Eklenmesi ile Rengin Maviden Sarıya Dönmesi



Şekil 3.7. ELx 800™ Microplate Reader, BioTek™, Vermont, USA

3.5.4. IL-39 Miktarının Belirlenmesi

Test prosedürüne başlanmadan reaktifler hazırlandı. Standart kuyucuklarına daha seri dilüsyon ile hazırlanmış standartlardan 50µl eklendi. Örnek kuyucuklarına 500 µl PBS içerisinde çözünmüş örneklerden 10µl eklendi. Daha sonra test numunesi kuyucuğuna 40µl sample diluent eklendi. Her kuyucuğa 100µl HRP-konjugat reaktifi eklendi, plak kapatıcı ile üzeri kapatıldı ve 60 dakika süreyle 37°C’de etüvde (Pıd Kontrollü İnkübatör, Termal Laboratuvar Aletleri, İstanbul, Türkiye) (Şekil 3.8.) inkübe edildi. Mikroplaka yıkayıcı yardımı ile 5 kez 400ul yıkama solüsyonu ile yıkama işlemine tabi tutuldu ve son yıkamadan sonra kurutma kağıdına ters şekilde vurularak içerisinde sıvı kalmaması sağlandı. Her kuyuya kromojen solüsyonu A dan 50µl ve kromojen solüsyonu B den 50µl eklendi. Yavaşça karıştırıldı ve 15 dakika 37°C'de karanlık ortamda inkübe edildi. Her kuyuya 50µl stop solüsyonu eklendi. Kuyulardaki renk maviden sarıya döndü. Mikroplaka okuyucu kullanarak 450 nm'de OD ölçüldü.



Şekil 3.8. Ptd Kontrollü İnkübatör, Termal Laboratuvar Aletleri, İstanbul, Türkiye

3.6. İstatiksel Analizler

İstatistiksel analizler IBM SPSS for Windows Version 23.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Sağlıklı ve periodontitisli gruplar için yaş, cinsiyet, klinik parametreler (Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK), DOS hacmi ve sitokin (IL-1 β /IL-39) miktarları bakımından farklılıklar ve ilişkiler istatistiksel analizler yardımıyla incelendi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk normallik testi ile değerlendirildi. İki grubun nicel (kantitatif) verilerinin karşılaştırmasında, parametrik test koşullarının sağlanması durumunda “Bağımsız İki Örneklem t Testi” uygulandı. Parametrik koşulların sağlanamadığı durumlarda Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik verilerin analizinde Pearson ki kare (χ^2) testi kullanıldı. Sayısal verilerin birbiri ile ilişkileri her grup için Spearman’s Rho korelasyon katsayısı ile değerlendirildi. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Güç Analizi

Hesaplanan güç analizinde; etki büyüklüğü ($d=0,67$) olarak hesaplandığında, 0,05 hata payı, 0,80 güç ile çalışmaya dahil edilmesi gereken minimum örneklem sayısı toplam $n=74$ olarak bulunmuştur. $n=100$ olarak alındığında çalışmanın gücü %93 olarak hesaplanmıştır. G*Power 3.1 programı ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamıza 50 periodontal olarak sağlıklı ve 50 periodontitisli toplam 100 birey dahil edildi. Bireylerin başlangıç tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK değerleri kaydedilerek, DOS örnekleri toplandı. Toplanan örneklerde IL-1 β ve IL-39 seviyeleri ELISA yöntemiyle tespit edildi. Elde edilen değerler gruplar arasında karşılaştırmalı olarak incelendi.

4.1. Demografik Bulgular

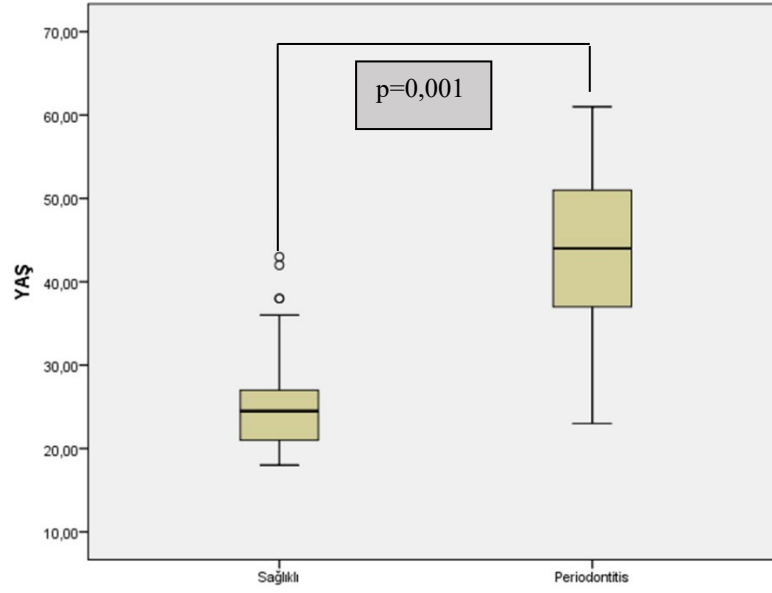
Çalışmamızda yer alan bireylere ait demografik bulgular Tablo 4.1’de yer almaktadır.

Tablo 4.1. Gruplara Ait Demografik Veriler

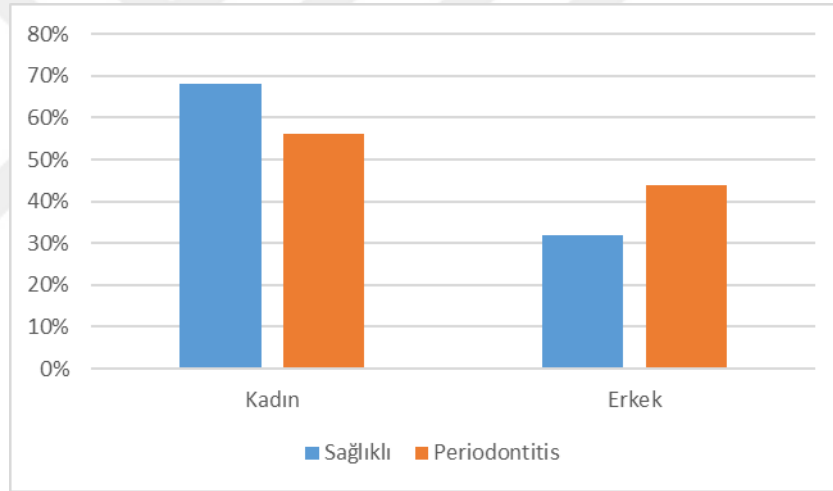
		Sağlıklı	Periodontitis	p değeri
Yaş		25,50 $\pm$ 5,96	43,68 $\pm$ 9,23	0,001*
Cinsiyet	Kadın	34	28	0,216
	Erkek	16	22	

Çalışmamızda sağlıklı grubun yaşları 18 ile 43 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları 25,50 $\pm$ 5,96’dır. Periodontitis grubunun yaşları 23 ile 61 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları 43,68 $\pm$ 9,23’dür. Periodontitis grubuyla sağlıklı grup arasında yaş ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (p=0,001) (Şekil 4.1.).

Çalışmaya katılan bireylerin 62’sini (%62) kadın, 38’ini (%38) erkekler oluşturmaktadır. Sağlıklı grubun %68’i kadın, %32’si erkek; periodontitisli grubun %56’sını kadınlar, %44’ünü erkekler oluşturmaktadır (Şekil 4.2). Cinsiyet dağılımları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır (p:0,216).



Şekil 4.1. Grupların Yaş Ortalamalarının Dağılımı



Şekil 4.2. Grupların Cinsiyete Göre Dağılımı

4.2. Klinik Parametre Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Periodontitis grubu ve sağlıklı gruba ait klinik parametreler, Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK ortalama değerleri ve gruplar arası karşılaştırmalar Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Sağlıklı ve periodontitis grupları arasında tüm ikili grup karşılaştırmaları sonucunda bütün klinik parametrelerde periodontitis grubunun değerlerinin sağlıklı gruba göre daha yüksek olduğu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunduğu belirlenmiştir ($p=0,001$).

Tablo 4.2. Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması

Parametreler	Sağlıklı Grup (Ort. $\pm$ SS)		Periodontitis Grubu (Ort. $\pm$ SS)		Sağlıklı ve Periodontitis Grubu Değerlerinin Karşılaştırılması (p değeri)
	N	Değerler	N	Değerler	
Pİ	50	0,46 $\pm$ 0,14	50	1,66 $\pm$ 0,20	p:0,001*
Gİ	50	0,52 $\pm$ 0,19	50	1,70 $\pm$ 0,18	p:0,001*
SCD	50	1,98 $\pm$ 0,22	50	3,71 $\pm$ 0,48	p:0,001*
KAS	50	1,98 $\pm$ 0,22	50	3,80 $\pm$ 0,52	p:0,001*
SK	50	8,32 $\pm$ 2,87	50	74,98 $\pm$ 9,70	p: 0,001*

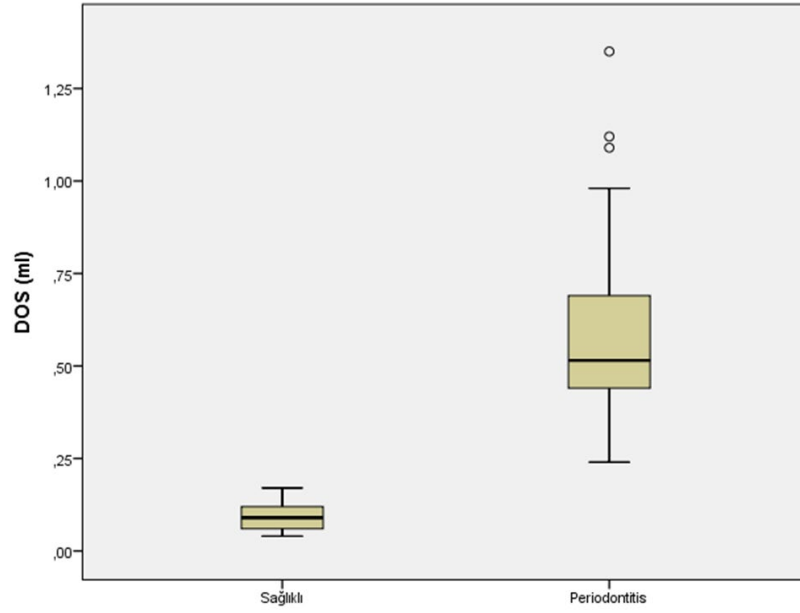
4.3. DOS Hacmi Ölçümlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Sağlıklı ve periodontitis gruplarına ait DOS hacmi ve gruplar arası karşılaştırmalar Tablo 4.3.'te yer almaktadır. DOS hacminin periodontitis grubunda sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p=0,001).

Tablo 4.3. DOS Hacminin Karşılaştırılması

Parametreler	Sağlıklı Grup (Ort. $\pm$ SS)		Periodontitis Grubu (Ort. $\pm$ SS)		Sağlıklı ve Periodontitis Grubu Değerlerinin Karşılaştırılması (p değeri)
	N	Değerler	N	Değerler	
DOS Hacmi (ml)	50	0,09 $\pm$ 0,04	50	0,58 $\pm$ 0,25	p:0,001*

Periodontal olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerin DOS hacminin grupları arası dağılımı Şekil 4.3.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. DOS Hacminin Gruplara Göre Dağılımı

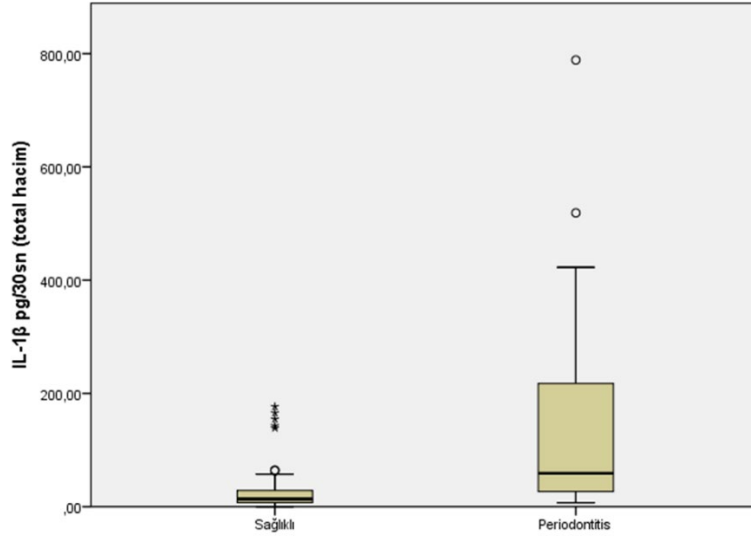
4.4. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyelerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Periodontal olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerin DOS IL-1 β ve IL-39 seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılmaları Tablo 4.4.'te gösterilmektedir. DOS IL-1 β pg/30sn seviyesinin periodontitis grubunda sağlıklı gruptan yüksek olduğu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p=0,001$). DOS IL-39 pg/30sn seviyesi ise periodontitis ve sağlıklı grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p=0,956$) (Şekil 4.4).

Tablo 4.4. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyelerinin Karşılaştırılması

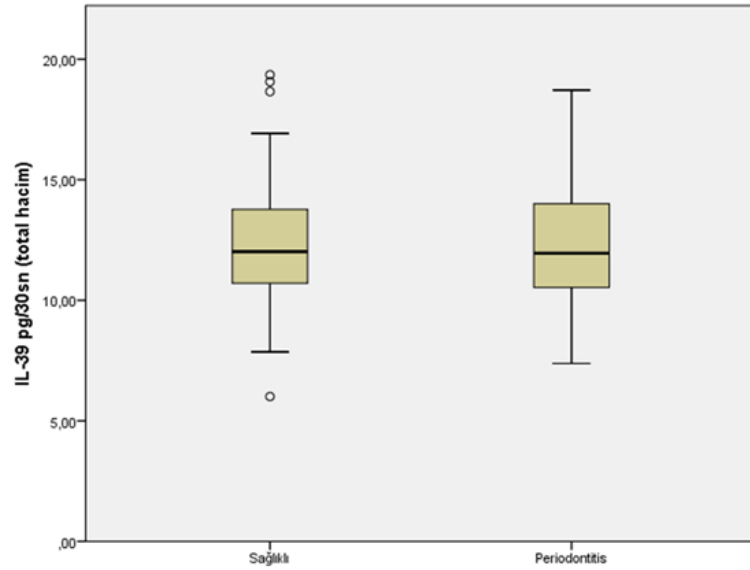
Parametreler	Sağlıklı Grup (Ort. $\pm$ SS)		Periodontitis Grubu (Ort. $\pm$ SS)		Sağlıklı ve Periodontitis Grubu Değerlerinin Karşılaştırılması (p değeri)
	N	Değerler	N	Değerler	
IL-1 β pg/30sn (total mik.)	50	31,09 $\pm$ 44,75	50	131,24 $\pm$ 157,84	p:0,001*
IL-39pg/30sn (total mik.)	50	12,36 $\pm$ 2,78	50	12,39 $\pm$ 2,38	p:0,956

Periodontal olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerin DOS IL-1 β seviyelerinin gruplar arası dağılımı Şekil 4.4.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4. IL-1 β Seviyesinin Gruplar Arası Dağılımı

Periodontal olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerin DOS IL-39 seviyelerinin gruplar arası dağılımı Şekil 4.5.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. IL-39 Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı

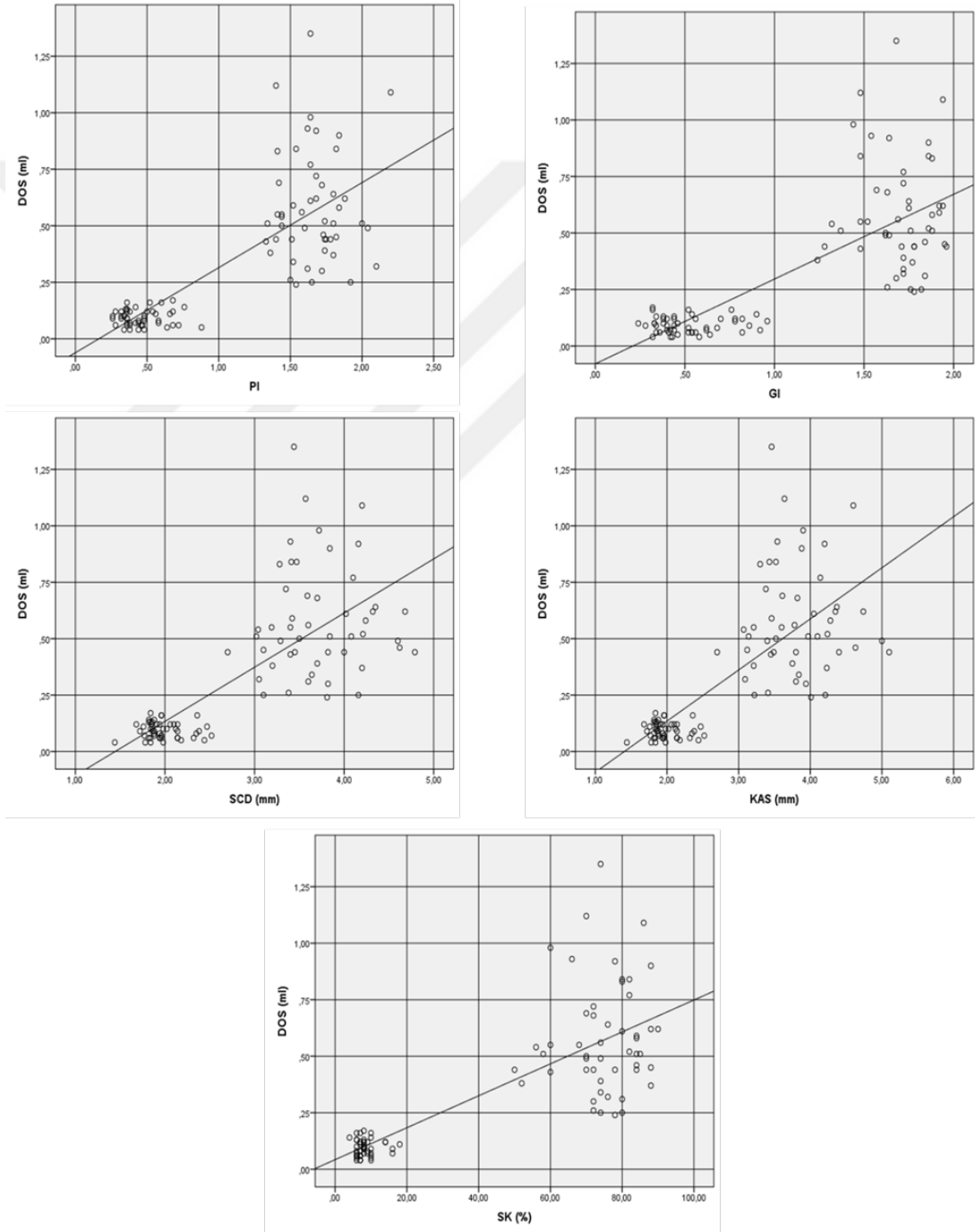
4.5. DOS Hacmi ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

DOS hacmi ile klinik parametreler Pİ ($r:0,746$), Gİ ($r:0,743$), SCD ($r:0,753$), KAS ($r:0,751$) ve SK ($r:0,780$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon bulundu ($p=0,001$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. DOS Hacmi ve Klinik Parametreler Arası İlişki

	Sperman's Rho	Klinik Parametreler				
		PI	GI	SCD	KAS	SK
DOS Hacmi(ml)	r	,746**	,743**	,753**	,751**	,780**
	p	,001*	,001*	,001*	,001*	,001*

DOS hacmi ile klinik parametre değerleri arasındaki ilişki Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. DOS Hacmi ile Klinik Parametre Değerleri Arasındaki İlişki

4.6. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

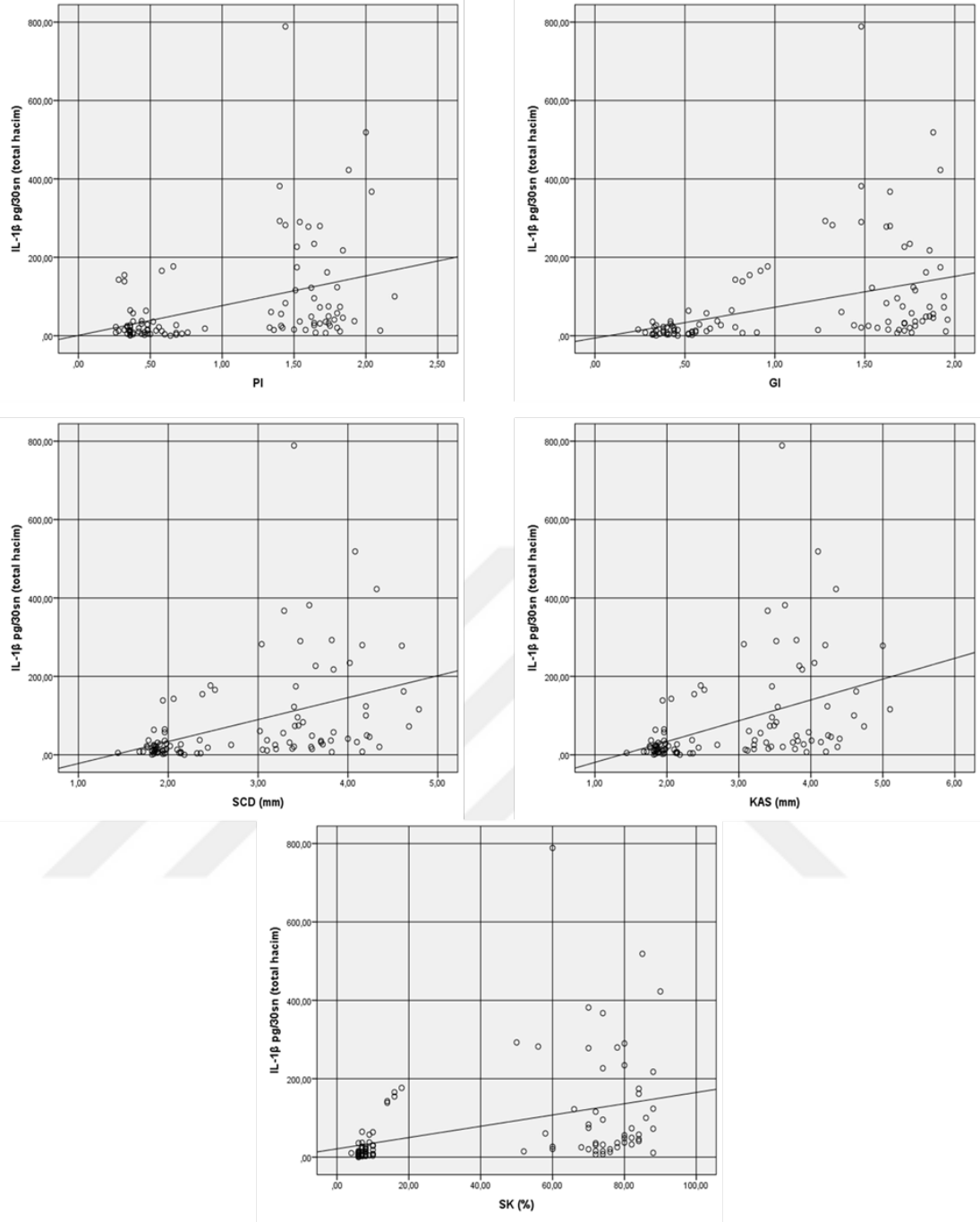
DOS IL-1 β seviyeleri ile tüm klinik parametreler, Pİ (r:0,429), Gİ (r:0,570), SCD (r:0,559), KAS (r:0,560), SK (r:0,613) arasında pozitif anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,001). DOS IL-39 seviyeleri ile tüm klinik parametreler, Pİ (r:0,001), Gİ (r:0,161), SCD (r:0,092), KAS (r:0,092), SK (r:0,035) arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

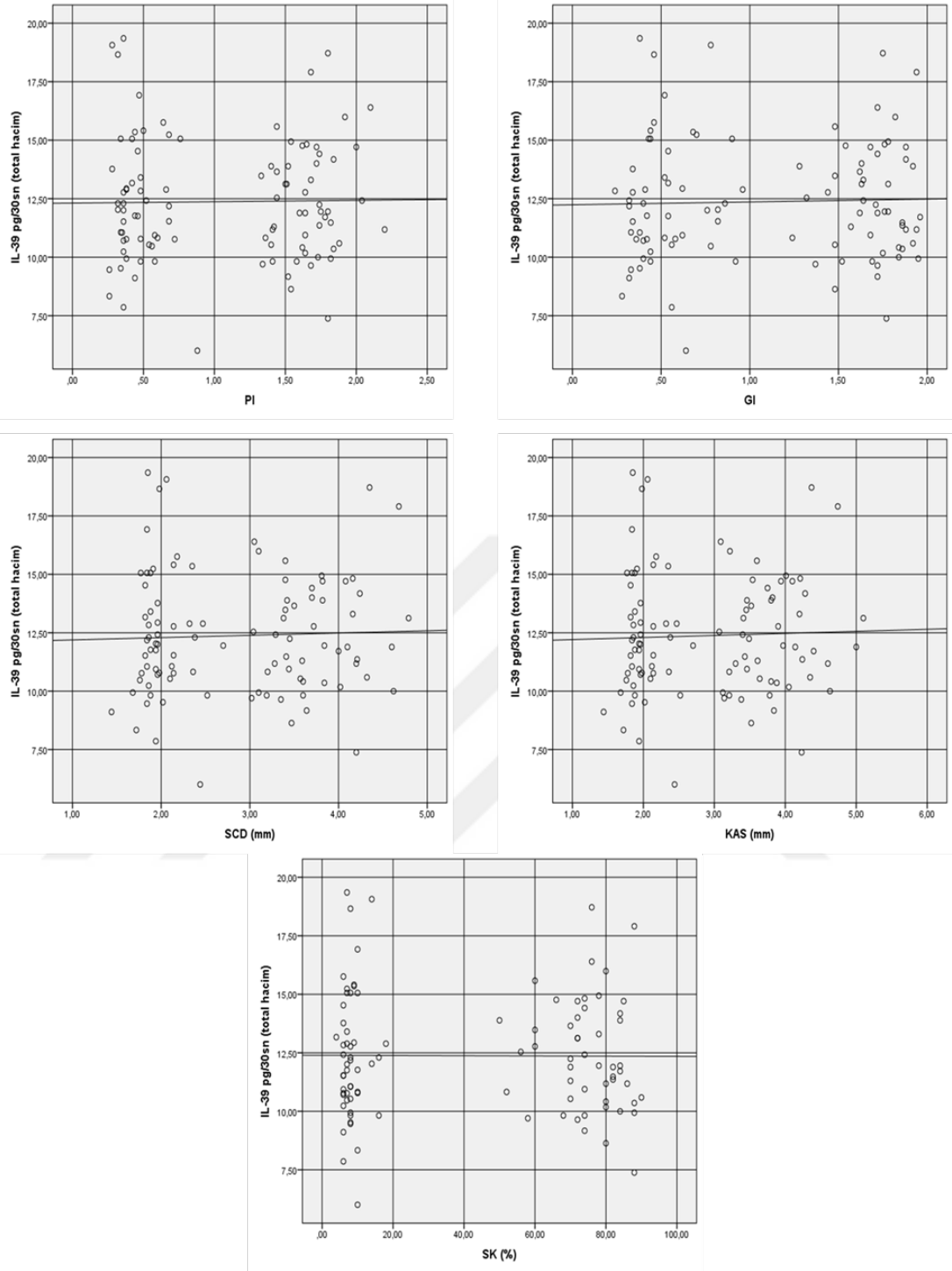
	Sperman's Rho	Klinik Parametreler				
		PI	GI	SCD	KAS	SK
IL-1 β pg/30sn (total mik.)	r	,429**	,570**	,559**	,560**	,613**
	p	,001*	,001*	,001*	,001*	,001*
IL-39 pg/30sn (total mik.)	r	,001	,161	,092	,092	,035
	p	,997	,264	,524	,524	,812

DOS IL-1 β seviyesi ile klinik parametre değerleri arasındaki ilişki Şekil 4.7.'de gösterilmiştir.

DOS IL-39 seviyesi ile klinik parametre değerleri arasındaki ilişki Şekil 4.8.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. DOS IL-1 β Seviyesi ile Klinik Parametre Değerleri Arasındaki İlişki



Şekil 4.8. DOS IL-39 Seviyesi ile Klinik Parametre Değerleri Arasındaki İlişki

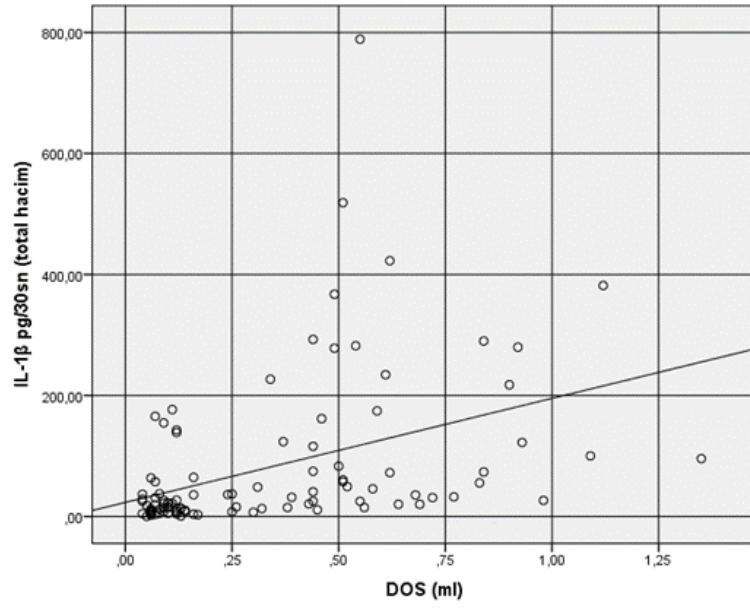
4.7. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyeleri ve DOS Hacmi Arasındaki İlişkiler

DOS IL-1 β , IL-39 seviyeleri ve DOS hacmi arasındaki ilişkiler Tablo 4.7.'de gösterilmektedir. IL-1 β seviyesi ile DOS hacmi ($r:0,548$) arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,01$). IL-39 seviyesi ile DOS hacmi ($r: -0,14$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktur ($p>0,05$).

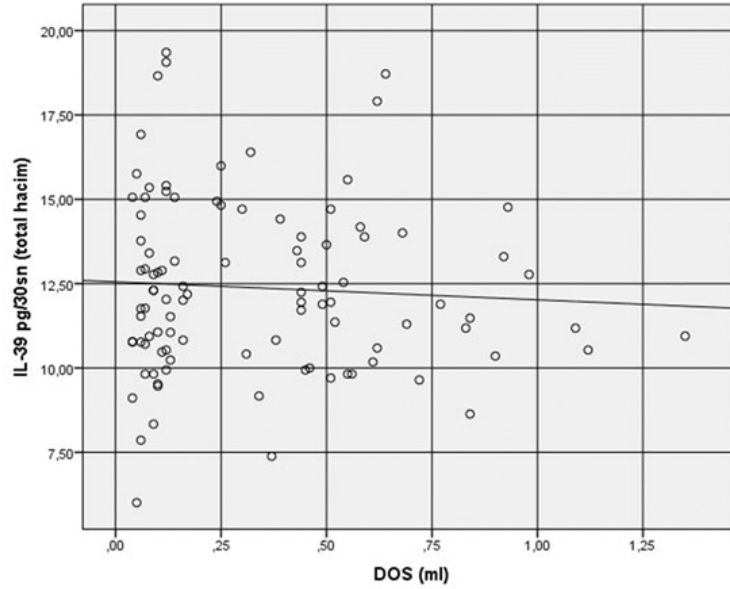
Tablo 4.7. DOS IL-1 β , IL-39 Seviyeleri ve DOS Hacmi Arasındaki İlişkiler

	Sperman's Rho	DOS Hacmi
IL-1 β pg/30sn (total mik.)	r	,548**
	p	,001*
IL-39pg/30sn (total mik.)	r	-,014
	p	,889

DOS hacmi ile IL-1 β seviyelerinin değişim grafiği Şekil 4.9.'da, IL-39 seviyelerinin değişim grafiği ise Şekil 4.10.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. DOS Hacmi ile IL-1 β Seviyelerinin Değişimi



Şekil 4.10. DOS Hacmi ile IL-39 Seviyelerinin Değişimi

5. TARTIŞMA

Periodontitis, immün yanıt, patojen mikroorganizmalar, çevresel ve sistemik faktörlerin rol oynadığı, multifaktöriyel, kronik enflamatuvar bir hastalıktır.⁽¹⁵⁴⁾ Periodontal hastalıkların patogeneğinde yer alan temel etyolojik faktör mikrobiyal dental plak bakterileri olsa da hastalığın gelişmesi ve doku yıkımının ilerlemesi için bakteri-immün yanıt arasındaki etkileşimler ana rol oynamaktadır.⁽¹⁵⁵⁾ Periodontitis, vücudun genel enflamatuvar yükünü artırarak, sistemik rahatsızlıkların (diabetes mellitus, ateroskleroz vs.) ilerlemesine sebep olabilir.⁽¹⁵⁶⁾ Tüm popülasyonun %11.2'si şiddetli periodontitisten etkilenmiş olup, dünyadaki en yaygın altıncı durum olduğundan bahsedilmiştir.⁽¹⁹⁾

Periodontal hastalık durumu; mikrobiyal dental plak, tükürük, kan, dişeti dokusu, DOS gibi örnekler incelenerek tespit edilebilir. Yapılan çalışmada mikrovasküler sızıntıdan kaynaklanan ve mikrobiyal dental plağa karşı konağın enflamatuvar cevabı sonucu artan DOS'un, içerdiği doku yıkım ürünleri, moleküler yapısı ve miktarının lokal doku yıkımını daha iyi gösterdiği bildirilmiştir.⁽¹⁵⁷⁾ DOS içeriğinin, periodontal hastalıkların patogenezi ile olan bağlantısı, hastalıklara tanı konulmasındaki yol göstericiliği ve kendine ait biyolojik özellikleri ile gün geçtikçe çok sayıda çalışmada yer almaktadır.^(85,157,158) Yapılan çok sayıda çalışmada DOS'un biyokimyasal ve immünolojik olarak değerlendirilmesinin periodontal hastalık aktivasyonunun belirlenmesinde yararlı olabileceği vurgulanmıştır.^(5,85) DOS örneği toplamanın, periodontal hastalık hakkında bilgi verme, hastalıktan etkilenen bölgelerde bulunma, travmatik olma, kolay ve tekrarlanabilir şekilde elde edilebilme gibi avantajları vardır.⁽¹⁵⁹⁾ DOS örneği toplamak için üç farklı teknik vardır, sıklıkla kağıt strip tekniği kullanılmaktadır.⁽¹⁶⁰⁾ Kağıt strip tekniği içerisinde daha az mekanik irritasyon ve sıvı artışına sebep olduğu için, araştırmacılar tarafından daha çok 'orifice yöntemi' tercih edilmektedir.^(108,111) Literatürde DOS örneği toplamak için ideal bir süre verilmemiştir, ancak çalışmalarda sıklıkla 30 sn kullanılmaktadır.^(152,161,162) DOS örnekleri toplanırken, dişeti olduğundan gelen sıvının tümü toplanan DOS örneğini oluşturmaktadır. Enflamatuvar eksuda, kan, tükürük veya subgingival plağın DOS örneğine karışması toplanan DOS hacmini artırabilmektedir.⁽¹⁶³⁾ Bizde çalışmamızda kağıt striplerle 'orifice yöntemi'ni kullanarak diş eti olduğundan 30 sn süre ile DOS örnekleri elde ettik, kan ve tükürük ile kontamine olan kağıt stripleri çalışmaya dahil etmedik.

DOS miktarı ve içeriği, periodontal dokunun sağlık ve hastalık durumundan etkilenmektedir.^(164,165) Çalışmamızda DOS hacimleri, çalışma öncesinde kalibre edilmiş Periotron 8010® cihazı ile ölçüldü ve periotron skorlarının µl'ye çevrilmesi için Hamilton #701 şırıngası ile Periotron 8010® cihazına ait kalibrasyon eğrisi oluşturularak, eğrideki veriler kullanıldı. Yapılan çalışmalarda periodontal hastalık durumunda DOS hacminde artış olduğu belirtilmektedir.^(85,112,152,166,167) Sakallıoğlu ve ark.⁽¹⁶⁶⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, kronik periodontitis hastalarının DOS hacimlerinin periodontal olarak sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu rapor edilmiştir. Emingil ve ark.⁽¹⁶⁷⁾ yaptıkları çalışmada, periodontal olarak sağlıklı grupta DOS hacmini $0,17 \pm 0,08$ ml, kronik periodontitis grubunda $0,88 \pm 0,15$ ml olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda periodontal olarak sağlıklı grupta DOS hacimleri $0,09 \pm 0,04$ ml seviyelerinde iken, periodontitis grubunda $0,58 \pm 0,25$ ml seviyelerinde tespit edilmiş olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. Elde ettiğimiz sonuç literatür ile uyumludur.

Yapılan çalışmalarda DOS hacmi ile periodontal enflamasyon ve klinik periodontal parametreler arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir.^(112,168-170) Özkavaf ve ark.⁽¹¹²⁾ 1111 DOS örneklem bölgesini dahil ederek yaptıkları bir çalışmada, SCD ve Gİ değerlerinin artmasıyla DOS hacminin anlamlı derecede arttığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da DOS hacmi ile periodontal klinik parametreler arasında (Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK) pozitif korelasyon gözlenmiştir.

DOS'taki biyokimyasal marker seviyelerinin tespit edilmesinde kullanılan analiz yöntemi büyük önem taşımaktadır. DOS içeriğinin tespitinde kullanılacak yöntemin çok küçük hacimlerde, çok az miktarda bulunan mediyatörleri saptayabilecek hassasiyete sahip olması gerekmektedir.⁽¹⁷¹⁾ ELISA, periodontal çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır ve periodontal hastalık patogeneziyle ilgili çok sayıda belirteç içermektedir.⁽¹⁷²⁾ Ayrıca bu yöntemin, hem klinik teşhis hem de araştırmada hızlı ve güvenilir analiz için güçlü bir araç olduğu düşünülmektedir.⁽¹⁷³⁾ Farklı ELISA türleri vardır, bunların kendi içerisinde avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Direkt ELISA'nın hızlı ve ikincil antikor çapraz reaktivitesinin ortadan kaldırılması gibi avantajlarının yanında düşük hassasiyet göstermesi ve her ELISA için spesifik antikor kullanılması nedeniyle zaman alıcı ve pahalı olması gibi dezavantajları vardır. İndirekt ELISA'nın, hesaplı olması, birçok birincil antikorla kullanılabilmesi ve yüksek hassasiyet göstermesi gibi avantajları bulunurken, ikincil antikorlar

arasında çapraz reaktivite riski göstermesi gibi dezavantajı mevcuttur. Kompetatif ELISA'da ise örneklerin minimum saflaştırılması, bir örnekteki birçok antijeni ölçebilmesi, küçük antijenlerde kullanılabilmesi, düşük değişkenlik göstermesi gibi avantajlarının yanında düşük hassasiyet göstermesi gibi dezavantajı vardır. Sandviç ELISA'nın ise, örneklerin minimum saflaştırılması, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması gibi avantajları bulunurken, birincil ve ikincil antikorların kullanılmak zorunda olması ve zaman alıcı olması gibi dezavantajları mevcuttur.⁽¹⁷⁴⁾ Dezavantajlarına rağmen Sandviç ELISA, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Biz de çalışmamızda Sandviç ELISA yöntemini kullandık.

Periodontitis ve yaş arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda periodontitisin daha çok ileri yaşlarda görüldüğü savunulmuştur.^(175,176) Locker ve ark.⁽¹⁷⁷⁾ tarafından yapılan 1980-1996 yıllarını kapsayan meta-analizde, yaşın periodontitis için bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir. ABD Halk Sağlığı Servisi, Ulusal Diş Hekimliği Araştırma Enstitüsü tarafından 1985-1986 yıllarında yapılan ulusal ankette, 4 mm'den fazla ataşman kaybının 25-34 yaş aralığındakilerde prevalansının %13,8; 55-64 yaş aralığındakilerde %53,6 olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada 4-6 mm'lik periodontal ceplerin tüm yetişkinlerin %13,4'ünde mevcut olduğu ve daha ileri yaş gruplarında periodontal ceplere daha sık rastlandığı tespit edilmiştir.⁽¹⁷⁸⁾ Norderyd ve Hugoson⁽¹⁷⁹⁾ tarafından İsveç'te 20-70 yaşları arası 547 yetişkin ile yapılan araştırmada, ileri yaş gruplarında periodontal hastalığın daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda ise yaşın periodontal hastalık açısından bir risk faktörü olmadığı düşünülmektedir.⁽¹⁸⁰⁻¹⁸²⁾ Genco ve ark.⁽⁵⁸⁾ yaşlanma ile gözlenen periodontal yıkım oranlarının artmasının, yaştan bağımsız bir durum olduğunu, yaşın tek başına bir risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir. Abdellatif ve ark.,⁽¹⁸³⁾ Amerika'da yapılan Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırmasındaki (NHANES) 15 ile 74 yaşları arasında 14.690 kişiden oluşan çalışmadan alınan verileri analiz etmiş ve tüm yaş gruplarında oral hijyeni yeterli olanların %95'inden fazlasında periodontitis olmadığını belirtmişlerdir. Machtie ve ark.⁽¹⁸⁴⁾ tarafından 742 kadın, 685 erkek ile yapılan çalışmada 65 yaşından önce yaşa bağlı meydana gelen değişikliklerin, periodontitis için risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda, periodontitisli grubun yaş ortalamaları, sağlıklı gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Çalışmamızın

sonuçları, periodontitisin yaşla birlikte arttığını destekleyen çalışmalarla uyumludur.⁽¹⁷⁵⁻¹⁷⁹⁾

Periodontitis ve cinsiyet arasındaki ilişkiyi değerlendiren araştırmalarda farklı sonuçların elde edildiği görülmektedir. Periodontitisin görülme sıklığının erkeklerde daha fazla olduğunu belirten çalışmalar^(58,185,186) olduğu gibi, cinsiyet arasında farklılık olmadığını bildiren çalışmalarda⁽¹⁸⁷⁻¹⁸⁹⁾ bulunmaktadır. Susin ve ark.⁽¹⁸⁵⁾ yaşları 30-103 arasında değişen 853 kişiyle yaptıkları çalışmada, klinik ataşman kaybından etkilenen diş sayısı ve seviyesinin erkeklerde kadınlara göre %60 oranında daha ciddi olduğunu bildirmişlerdir. Albandar⁽¹⁸⁶⁾ tarafından yapılan çalışmada, erkeklerin ağız hijyen durumlarının daha kötü olduğu ve buna ek olarak hormonal, davranışsal ve fizyolojik farklılıkları sebebiyle erkeklerin kadınlara göre daha yüksek periodontal hastalık riskine sahip olduğunu bildirmiştir. Genco⁽⁵⁸⁾ tarafından yapılan popülasyon çalışmalarında karşılaştırılabilir yaşlarda erkeklerin kadınlara göre daha yaygın ve şiddetli periodontal hastalığa sahip olduğu rapor edilmiştir. Silva-Boghossian ve ark.⁽¹⁸⁷⁾ tarafından, 21-70 yaşları arası 491 hasta ile yapılan çalışmada, klinik parametreler değerlendirildiğinde cinsiyetle ilgili olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Khader ve ark.'nın⁽¹⁸⁸⁾ 15-65 yaş arası 270 erkek 333 kadın hastada yaptıkları çalışmada; cep derinliği, klinik ataşman kaybı ve çekilme derinliği gibi parametreler değerlendirildiğinde cinsiyetler arasında fark olmadığı bildirilmiştir. Susin ve ark.'nın,⁽¹⁸⁹⁾ 14-29 yaş arası genç yetişkinlerde yaptıkları 612 kişiden oluşan çalışmada yapılan analizlerde, cinsiyet ve ırkın kronik periodontitis ile anlamlı bir ilişkisi olmadığı bildirilmiştir. Çalışmamızda, gruplar arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. Çalışmamızın sonuçları, periodontitis görülme sıklığı ile cinsiyet arasında farklılık olmadığını bildiren çalışmalarla uyumludur.

Sistemik durumların, konak immün yanıt ve enflamatuvar süreçleri etkilemesinin periodontal hastalık patogenezi üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir.⁽¹⁹⁰⁾ Sistemik durumlardan birisi olan aterosklerotik kalp hastalıkları ile periodontitis arasında yakından bir ilişki mevcuttur.⁽¹⁹¹⁾ Yapılan çalışmalarda diabetes mellitusun periodontitis için bir risk faktörü olduğu, ayrıca diabetes mellitusu olan hastalarda periodontal hastalık prevalansının 3 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir.^(192,193) Şiddetli periodontal hastalığı olan diabetes mellituslu hastaların renal ve kardiyovasküler komplikasyonlar açısından daha fazla risk altında olduğu

gösterilmiştir.⁽¹⁹⁰⁾ Ayrıca hamilelik dönemlerinde dişeti sağlığının, hormonal değişikliklerden etkilendiği bildirilmiştir.⁽¹⁹⁴⁾ Bunların dışında periodontal hastalık ile ilişkili olabilecek hastalıklar arasında osteoporoz, immünsupresif hastalıklar, kan hastalıkları, histiyositozis sendromu ve genetik hastalıklar yer almaktadır.⁽¹⁹⁰⁾ Sistemik antibiyotik kullanımının, periodontal mikroorganizmaların ve konak immün hücrelerinin sitokin cevabını etkileyeceği, ayrıca DOS hacmi ve içeriğini değiştireceği bildirilmiştir.^(195,196) Çalışmamızda katılan tüm bireylerin periodonsiyumu etkilememesi açısından sistemik olarak sağlıklı olmasına, son 6 ay içerisinde antibiyotik kullanmamış olmasına, ayrıca kadınların hamilelik döneminde olmamalarına dikkat edildi.

Sigara kullanımı, periodontal cep derinliğinde artış, klinik ataşman kaybı, alveoler kemik kayıpları, diş mobilitesi ve diş kayıplarıyla ilişkilidir. Sigara öncelikle periodontal dokularda vazodilatasyona sebep olur, daha sonra nikotinin etkisiyle vazokonstrüksiyona sebep olarak kan akımını azaltıp, dişeti enflamasyonu ve sondlamada kanama gibi periodontal hastalığın ilk bulgularını baskılar.⁽¹⁹⁷⁾ Sigara kullanan bireylerin periodontal hastalıklara 4 kat daha yatkın olduğu ve hastalığın daha şiddetli seyrettiği belirtilmiştir.⁽¹⁹⁸⁾ Sigara içen bireylerde subgingival plakta yer alan periodontopatojenlere rastlanma sıklığının içmeyenlere göre daha fazla olduğu,⁽¹⁹⁹⁾ sigara kullanımının lokal ve sistemik sitokin seviyelerini değiştirdiği,⁽²⁰⁰⁾ sigara kullanan kişilerin kullanmayanlara göre daha düşük DOS hacmine sahip oldukları bildirilmiştir.⁽²⁰¹⁾ Sigara kullanımı, ayrıca dişeti oluğunda subgingival sıcaklıkta artışa sebep olur.⁽²⁰²⁾ Sigaranın, dişeti oluğunda oksijen basıncında azalmaya sebep olduğu, bunun sonucunda subgingival florayı etkileyebileceği,⁽²⁰³⁾ normal PMNL kemotaktik ve fagositik yeteneğini olumsuz yönde etkilediği, ayrıca nikotinin süperoksit ve IL-1 β 'nın salınımını azaltarak nötrofil ve monositlerin savunma fonksiyonunu baskıladığı bildirilmiştir.^(204,205) Bu veriler dikkate alınarak çalışmamıza sigara içen bireyler dahil edilmedi.

Pİ, diş üzerindeki plak miktarını tespit ederek oral hijyen durumunu değerlendirmek için kullanılmaktadır.⁽¹⁴⁸⁾ Gİ kullanılarak dişetinin rengi, kıvamı ve kanamanın olup-olmaması değerlendirilerek enflamasyonun şiddeti tespit edilmektedir.⁽¹⁴⁹⁾ SCD'nin periodontal hastalığın o anki durumunu belirtmesi, KAS'ın hastalığa bağlı geçmişte meydana gelen yıkımları göstermesi sebebiyle, periodontal hastalığın tanımlanmasında önemli ölçümler olarak kullanılmaktadır.⁽²⁰⁶⁾ SCD ve KAS beraber

kullanıldıklarında bireyin geçmişten günümüze kadar ki periodontal durumunu ve tedaviye verdiği cevabı daha objektif değerlendirmemizi sağlamaktadır.⁽²⁰⁷⁾ SCD ölçümü için farklı teknikler olmasına rağmen, Williams periodontal sondu ile yapılan manuel ölçümlerin hem altın standart hem de pratik olduğu bildirilmiştir.⁽²⁰⁸⁾ SK, dişeti oluğu veya periodontal cep içerisindeki enflamasyonu yüzde cinsinden ifade eden objektif bir parametredir.⁽²⁰⁹⁾ Sondalamada kanamanın varlığı, kesin ataşman kaybı olacağının delili değildir. Sondlamada kanamanın olmaması ise klinik ataşman kaybının olmayacağına dair iyi bir gösterge olduğu bildirilmiştir.⁽²¹⁰⁾ Hem hastalık aktivitesini hem hastalığa bağlı geçmiş yıkımları göstermesi açısından SCD, KAS ve SK ölçümlerinin bir arada kullanılmasının altın standart olarak kabul edildiği bildirilmiştir.⁽²¹¹⁾ Çalışmamızda bireylerin periodontal olarak sağlıklı ve periodontitis olma durumlarının tespiti için literatürle uyumlu olan periodontal klinik parametreleri (Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK) kullandık. Farklı klinisyenler tarafından yapılan klinik ölçümlerin sonuçları etkileyebilmesi sebebiyle, çalışmamızdaki tüm klinik ölçümler tek bir klinisyen tarafından (MÇ) yapılmıştır.

DOS konsantrasyonu, doğrudan DOS hacminden etkilenmektedir. Bu sebeple, periodontal hastalıklarda DOS içeriğinde yer alan sitokin seviyelerinde meydana gelen değişimleri değerlendirmede total miktarın, konsantrasyon miktarından daha önemli bir belirteç olduğu bildirilmiştir.^(165,212) DOS içeriğinde yer alan total sitokin seviyesinin periodontal hastalığın klinik durumu ile ilişkisinin, DOS konsantrasyonuna göre daha güçlü olduğu tespit edilmiştir.⁽²¹³⁾ Bu sebeplerle çalışmamızda sitokin değerlendirmeleri total miktar üzerinden yapılmıştır.

Hücreler arası iletişimde görev alan ve yapısal ve enflamatuar hücreler gibi çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen çözünebilir proteinlere sitokin denir. Sitokinler, yapım ve yıkım aşamaları arasında hassas bir denge gerektiren doku homeostazının korunmasında önemli rol oynar. Çeşitli kanıtlar, sitokinlerin sadece doku homeostazında değil, aynı zamanda birçok enflamatuar hastalığın patogenezinde de önemli roller oynadığını ortaya koymuştur. Enflame periodontal dokularda aşırı veya sürekli sitokin üretiminin periodontitisin ilerlemesinden ve periodontal doku yıkımından sorumlu olduğuna dair birçok kanıt vardır. Sitokin üretiminin veya durumunun izlenmesi, bir bireyin periodontal hastalık durumunu veya hastalığa yatkınlığını teşhis etmemize yardımcı olmaktadır.⁽¹¹³⁾ Çalışmamızda, periodontal

olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerde DOS'ta pro-enflamatuar sitokinlerden IL-1 β ve yeni keşfedilmiş bir sitokin olan IL-39 değerlendirildi.

IL-1 β , periodontal hastalık patogeneğinde enflamatuar süreçlerin düzenlenmesinde etkili görevleri olan, çok fonksiyonlu pro-enflamatuar bir sitokindir. T-lenfosit ve B-lenfosit proliferasyonu, antikor üretimini artırmak, lenfokin yapımını uyarmak, fibroblast proliferasyonu, prostoglandinlerin salınımını artırmak, ekstraselüler matriks yıkımından sorumlu MMP'lerin salınımını uyarmak, kemik yıkımında aktif rol almak gibi görevleri vardır.⁽²¹⁴⁾ Yapılan çalışmalarda, DOS'taki IL-1 β seviyelerinin enflamasyonun şiddetine bağlı olarak arttığı, periodontal hastalığa sahip bireylerde DOS IL-1 β seviyelerinin sağlıklı bireylerden daha yüksek seyrettiği tespit edilmiştir.⁽²¹⁵⁻²¹⁸⁾

Oh ve ark.⁽²¹⁵⁾ 13 kronik periodontitis hastasının SCD değerleri 3 mm'den küçük ve 5 mm'den büyük 26 bölgesinden örnek alarak yaptıkları çalışmada, SK, DOS hacmi ve IL-1 β seviyesinin, derin SCD bölgelerinde, sık SCD bölgelerinden önemli ölçüde yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca çalışma sonucunda DOS hacmi ve IL-1 β seviyesinin hastalığın şiddetini yansıttığını ve bu değişkenlerin dişeti enflamasyonunun belirteçleri olarak SCD ve SK'dan daha iyi olduğunu söylemişlerdir.

Engbretson ve ark.⁽²¹⁶⁾ 16 sağlıklı, 13 hafif şiddette, 12 orta şiddette ve 12 şiddetli periodontitis hastasıyla yaptıkları çalışmada, tüm hastaların IL-1 β seviyesi ile SCD ve KAS arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu, Pİ ve SK arasında ise daha az oranda korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda, DOS IL-1 β seviyesinin periodontitis grubunda, sağlıklı gruptan daha yüksek olduğunu, gruplar arasında ise periodontitis şiddeti arttıkça DOS IL-1 β seviyesinin arttığını bulmuşlardır.

Orozco ve ark.⁽²¹⁷⁾ yaşları 27-57 arası değişen 10 gingivitis ile yaşları 37-81 arası değişen 10 periodontitis hastası ile yaptıkları çalışmada, DOS IL-1 β seviyelerinin, gingivitis hastalarından alınan DOS örneklerinde, periodontitis hastalarına göre önemli ölçüde daha düşük olduğunu, bunun yanında gingivitis ve periodontitis gruplarının serum örneklerinde IL-1 β seviyesinin çok az bulunduğunu veya saptanamadığını söylemişlerdir.

Faizuddin ve ark.⁽²¹⁸⁾ Hindistan popülasyonunda; 20 klinik olarak dişetleri sağlıklı ve ataşman kaybı olmayan (grup I), 20 ataşman kaybı olmadan klinik dişeti enflamasyonu gösteren (grup II) ve 20 ataşman kaybı ile birlikte dişeti enflamasyonu olan (grup III) 60 kişi ile yaptıkları çalışmada, grup III'deki hastaların DOS'taki IL-1 β seviyelerinin grup II'dekinden istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu, grup II ve III'teki IL-1 β seviyelerinin ise grup I katılımcılarına göre istatistiksel olarak çok daha yüksek seviyelerde olduğunu bildirmişlerdir.

Preiss ve Mayle⁽²¹⁹⁾ yaş ortalaması 22.8 olan 14 sağlıklı ve yaş ortalaması 29.3 olan 19 periodontitisli bireyle yaptıkları çalışmada, DOS IL-1 β seviyesinin periodontitisli hastalarda sağlıklılardan daha yüksek olduğunu ve yaş ve cinsiyet ile arasında anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda DOS IL-1 β seviyesi ile SCD ve KAS arasında zayıf bir korelasyon olduğunu, en yakın ilişkinin ise SK ile arasında olduğunu bulmuşlardır.

Honig ve ark.⁽²²⁰⁾ yaş ortalaması 44,5 olan 10 periodontitis hastası ile yaş ortalaması 28,6 olan 11 sağlıklı bireyin katılımıyla dişeti doku örnekleri alarak yaptıkları çalışmada, sağlıklı bireylerden alınan doku örneklerinde IL-1 β tespit edemezken, periodontitisli hastalardan alınan 10 doku örneğinin tamamında IL-1 β bulmuşlardır. Bunun yanında ölçülen IL-1 β miktarı ile Gİ arasında korelasyona doğru bir eğilim olduğu ifade edilmiştir. Klinik ataşman kaybı ile IL-1 β varlığı arasında ilişki olmasına rağmen bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir.

Zhong ve ark.⁽²²¹⁾ yaptıkları çalışmada, DOS IL-1 β seviyelerinin, SK varlığında veya daha derin SCD'si olan kişilerde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca KAS'ın, artan IL-1 β seviyeleri ile SCD ve SK kadar güçlü bir şekilde ilişkisi olmadığını tespit etmişlerdir.

Tüter ve ark.⁽²²²⁾ 11 kadın 14 erkek toplam 25 periodontitis hastası ve 16 kadın 9 erkek toplam 25 sağlıklı katılımcı ile yaptıkları çalışmada, periodontitisli grup ile sağlıklı grup arasında klinik parametreler (Pİ, Gİ, SCD, KAS) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bunun yanında, IL-1 β seviyeleri ve DOS hacmi arasında pozitif istatistiksel bir korelasyon ile birlikte, periodontitisli hastaların periodontal olarak sağlıklı deneklere göre daha yüksek IL-1 β seviyelerine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Tsai ve ark.⁽²²³⁾ yaptıkları çalışmada, periodontitisli ve sağlıklı gruplarının hem konsantrasyon hem de toplam IL-1 β miktarlarının ortalama değerlerinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunduğunu, periodontitis grubunun sağlıklı gruba kıyasla önemli ölçüde daha yüksek DOS hacmi gösterdiğini bildirmişlerdir. Toplam IL-1 β miktarı ile klinik parametreler (Pİ, Gİ, SCD, KAS) arasında pozitif korelasyon olduğunu, mobilite ile sınırdan bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Fitzsimmons ve ark.⁽²²⁴⁾ Avustralya nüfusunda 511 periodontitis ve 562 periodontitis olmayan toplam 1073 kişide yaptıkları çalışmada, IL-1 β seviyelerinin periodontitis vakalarında, olmayanlara göre daha yüksek seyrettiğini ve istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. IL-1 β seviyeleri ile yaş, düşük sosyo-ekonomik durum, Pİ, Gİ, SCD ve KAS arasında pozitif korelasyon olduğunu da belirtmişlerdir.

Ertuğrul ve ark.⁽²²⁵⁾ 21 sağlıklı, 21 gingivitis, 21 kronik periodontitis ve 21 generalize agresif periodontitis hastası ile yaptıkları çalışmada klinik periodontal parametrelerin (Pİ, Gİ, SCD, KAS) sağlıklı grupta, diğer gruplardan anlamlı derecede düşük olduğunu; benzer şekilde DOS'taki total IL-1 β seviyelerinin de, periodontal olarak sağlıklı deneklerde, diğer gruplardan önemli ölçüde daha düşük bulunduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da literatürlerle uyumlu olarak periodontitisli grupta sağlıklı gruba göre DOS IL-1 β seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde DOS IL-1 β seviyeleri ile periodontal klinik parametreler (Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK) arasında da pozitif korelasyon tespit edilmiştir.

Günümüzde, karmaşık enflamatuvar süreç içeren periodontitisin patogenezinde rol oynayan yeni sitokinlerin araştırıldığı çalışmalar yapılmaktadır. Son yıllarda keşfedilen aktive B hücreleri tarafından salgılanan IL-39'un, pro-enflamatuvar sitokin olduğu ve SLE gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir.⁽¹⁷⁾ Pro-enflamatuvar sitokin olduğu düşünülen IL-39'un, periodontitisli hastalarda varlığı ile ilgili klinik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda, periodontal olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerde klinik olarak IL-39 seviyesinin varlığı değerlendirilmiş ve klinik periodontal parametrelerle ilişkisini incelenmiştir.

Literatür taraması yapıldığında IL-39 ile ilgili çalışma sayısı oldukça kısıtlı olup, çalışmaların çoğu in vitro ve hayvan çalışmalarıdır.^(14-16,147,226-229) Yapılan klinik çalışma sayısı son derece az olup,^(230, 231) IL-39 ile ilgili olarak diş hekimliği alanında yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Wang ve ark.⁽¹⁴⁾ yaptıkları hayvan çalışmasında, lupus eğilimli farelerin LPS ile uyarılan B hücreleri ve GL7⁺ aktive B hücreleri tarafından salgılanan IL-23p19 ve EBI3 heterodimerinden oluşan yeni bir IL-12 üyesi olan IL-39'u tanımlamışlardır. Çalışmacılar elde edilen veriler ışığında; aktive B hücreleri tarafından salgılanan IL-39'un önemli bir pro-enflamatuar sitokin ve lupus hastalıklarında potansiyel terapötik hedef olabileceğini belirtmişlerdir.

Wang ve ark.⁽¹⁶⁾ yaptıkları diğer bir çalışmada, in vivo ve in vitro olarak IL-39'un lupus eğilimli farelerde enflamasyona aracılık etmek için nötrofillerin farklılaşmasını ve/veya üretimini etkileyebileceğini bildirmişlerdir.

Wang ve ark.⁽²²⁶⁾ yaptıkları çalışmada, anti-IL-39 poliklonal antikorlarını lupus eğilimli farelere enjekte ettiklerinde, enflamatuar hücre sayısının, splenomegalinin, otoantikor titrelerinin, proteinürinin, infiltre enflamatuar hücrelerinin etkili bir şekilde azaldığını ve glomerüler bölgenin yapısının düzenlendiğini bildirmişlerdir. Bu bilgilerle IL-39'un, SLE dahil otoimmün hastalıklarda önemli bir pro-enflamatuar sitokin olduğu gösterilmiştir.

Manning ve ark.⁽²²⁷⁾ insan pankreas karsinomundan türetilen MiaPaCa-2 PC hücre hattı üzerinde yaptıkları çalışmada, IL-39'un pankreas kanseri hücreleri üzerinde pro-tümör etkisi olduğunu ve IL-39 varlığında pankreas kanseri hücre kolonilerinin yüzdesinin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. IL-39'un, kanser hücrelerinin büyümesini teşvik edip ve apoptozunu inhibe ederek, pankreas kanserinin büyümesini desteklediğini belirtmişlerdir.

Detry ve ark.⁽²²⁸⁾ insan hücrelerinde IL-12 sitokin ailesi zincir eşleşmelerini inceleyen bir raporda dört kabul görmüş üyenin (IL-12, IL-23, IL-27 ve IL-35) de salgılanabileceğini sağlam bir şekilde gösterirken, yeni heterodimerin (IL-39) koşullandırılmış ortamda çok fazla izolasyon oluşturarak bile bol miktarda salgılanamadığını bildirmişlerdir.

Bridgewood ve ark.⁽²²⁹⁾ yaptıkları çalışmada IL-39'un insan lökositlerini uyaramadığını, ayrıca STAT3 fosforilasyonu yoluyla hiçbir sinyal verme potansiyeli göstermediğini bildirmişlerdir. Çalışmalarında, insanda IL-39'a karşı fonksiyonel bir yanıtın gelişmediğini, bu zincir eşleşmesinin yalnızca farelerde bağışıklık yanıtlarının gelişmesinde bir rol oynayabileceğini düşünmüşlerdir.

Luo ve ark.⁽²³⁰⁾ 28 unstabil angina pectoris (UAP)'li, 17 non-ST-segment elevasyonlu miyokard enfarktüs (NSTEMI)'lü, 22 ST-segment elevasyonlu miyokard enfarktüs (STEMI)'lü, 21 normal koroner arterli 88 katılımcı ile yaptıkları çalışmada, normal koroner arterleri olan hastalara kıyasla akut koroner sendrom (AKS)'lu hastalarda serum IL-39 seviyelerinin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. UAP hastalarının serum IL-39 seviyeleri kontrol grubundakilerden daha yüksek ancak akut miyokardiyal enfarktüslü hastalardan daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, STEMI hastalarının IL-39 seviyelerinin güçlü bir şekilde arttığını, ancak STEMI ve NSTEMI hastaları arasında serum IL-39 seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığını söylemişlerdir. Ayrıca yaşlı hastalarda serum IL-39'da minör yükselmenin ortaya çıktığını, erkek ve kadın hastalar arasında serum IL-39 seviyelerinde önemli bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir.

Yang ve ark.⁽²³¹⁾, nöromiyelitis optika spektrum bozuklukları (NMOSD) olan 50 hasta, tekrarlayan-düzelen multiple sklerozlu (RRMS) 20 hasta, enflamatuvar olmayan nörolojik bozuklukları (NND) olan 30 hasta ve sağlıklı kontrol 78 kişi ile yaptıkları çalışmada, NMOSD'li deneklerde IL-39 serum seviyelerinin diğer gruplardan önemli ölçüde daha yüksek olduğunu, RRMS'li hastalarda serum IL-39 seviyelerinin, kontrollere kıyasla önemli ölçüde arttığını, ayrıca RRMS ve NND grupları arasında istatistiksel olarak fark olmadığını bildirmişlerdir.

Yapılan literatür taramaları değerlendirildiğinde, diş hekimliği alanında IL-39 ile ilgili yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız, periodontitisli ve sağlıklı bireylerde DOS'ta IL-39 varlığını tespit eden ilk çalışmadır. Bununla birlikte, DOS seviyelerinin gruplar arası değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda periodontal olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerde DOS IL-1 β ve IL-39 seviyelerinin belirlenmesi ve klinik periodontal parametrelerle ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen veriler ışığında;

- 1- Klinik periodontal parametreler değerlendirildiğinde periodontitis grubunda tüm değerler sağlıklı gruptan anlamlı derecede yüksektir.
- 2- DOS hacimleri periodontitis grubunda sağlıklı gruptan istatistiksel olarak yüksektir.
- 3- DOS hacmi ile klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmuştur.
- 4- IL-1 β seviyesi ile DOS hacmi arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki saptanmıştır.
- 5- DOS IL-1 β seviyeleri periodontitis grubunda anlamlı derecede yüksektir.
- 6- DOS IL-1 β seviyeleri ile klinik periodontal parametreler arasında pozitif korelasyon vardır.
- 7- DOS'ta IL-39 varlığı ilk kez tespit edilmiştir.
- 8- Örneklerin tamamında IL-39 total miktar (pg/30sn) olarak ölçülebilmektedir.
- 9- IL-39 seviyesi ile DOS hacmi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır.
- 10- DOS IL-39 seviyelerinde gruplar arası herhangi bir fark tespit edilememiştir.
- 11- DOS IL-39 seviyeleri ile klinik periodontal parametreler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.
- 12- IL-39 yeni bir sitokin olduğu için üzerinde daha fazla sayıda çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Cohen R, Mariotti A, Rethman M, Zackin S. Glossary of periodontal terms. Chicago: The American Academy of Periodontology. 2001.
2. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. J Periodontal Res. 1991;26(3):230-42.
3. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. Periodontol 2000. 2011;55(1):36-47.
4. Gómez C, Domínguez A, García-Kass AI, García-Nuñez JA. Adjunctive Nd: YAG laser application in chronic periodontitis: clinical, immunological, and microbiological aspects. Lasers Med Sci. 2011;26(4):453-63.
5. Armitage GC. Clinical evaluation of periodontal diseases. Periodontol 2000. 1995;7(1):39-53.
6. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. Periodontol 2000. 2004;34(1):9-21.
7. Prabhu A, Michalowicz BS, Mathur A. Detection of local and systemic cytokines in adult periodontitis. J Periodontol. 1996;67(5):515-22.
8. Górka R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliński K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. J Clin Periodontol. 2003;30(12):1046-52.
9. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cytokines. Cellular and molecular immunology 4ed: Philadelphia: W.B. Saunders; 2000;235-69.
10. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. J Periodontol. 2003;74(3):391-401.
11. Heasman P, Collins J, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels in IL-1 β , LTB $_4$, PGE $_2$, TXB $_4$ and TNF α in experimental gingivitis in humans. J Periodontal Res. 1993;(28):241-7.

12. Koide M, Suda S, Saitoh S, Ofuji Y, Suzuki T, Yoshie H, et al. In vivo administration of IL-1 β accelerates silk ligature-induced alveolar bone resorption in rats. *J Oral Pathol Med*. 1995;24(9):420-34.
13. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000*. 1997;14(1):33-53.
14. Wang X, Wei Y, Xiao H, Liu X, Zhang Y, Han G, et al. A novel IL-23p19/Ebi3 (IL-39) cytokine mediates inflammation in lupus-like mice. *Eur J Immunol*. 2016;46(6):1343-50.
15. Floss D, Schönberg M, Franke M, Horstmeier F, Engelowski E, Schneider A, et al. IL-6/IL-12 cytokine receptor shuffling of extra-and intracellular domains reveals canonical STAT activation via synthetic IL-35 and IL-39 signaling. *Sci Rep*. 2017;7(1):1-13.
16. Wang X, Liu X, Zhang Y, Wang Z, Zhu G, Han G, et al. Interleukin (IL)-39 [IL-23p19/Epstein-Barr virus-induced 3 (Ebi3)] induces differentiation/expansion of neutrophils in lupus-prone mice. *Clin Exp Immunol*. 2016;186(2):144-56.
17. Hasegawa H, Mizoguchi I, Chiba Y, Ohashi M, Xu M, Yoshimoto T. Expanding diversity in molecular structures and functions of the IL-6/IL-12 heterodimeric cytokine family. *Front Immunol*. 2016;(7):479.
18. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2001(25):8-20.
19. Kassebaum N, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray C, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res*. 2014;93(11):1045-53.
20. Eke PI, Dye B, Wei L, Thornton-Evans G, Genco R. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J Dent Res*. 2012;91(10):914-20.
21. Akpınar A, Toker H, Çalışır M. Periodontoloji kliniğine başvuran hastalarda periodontal durum ve sistemik hastalıkların değerlendirilmesi. *Cumhuriyet Dent J*. 2012;15(2):93-100.

22. Seymour G, Ford P, Cullinan M, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13:3-10.
23. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018;89:173-S82.
24. Baehni P, Tonetti M, Periodontology GotEWo. Conclusions and consensus statements on periodontal health, policy and education in Europe: a call for action—consensus view 1: Consensus report of the 1st European Workshop on Periodontal Education. *Eur J Dent Educ.* 2010;14:2-3.
25. Arigbede AO, Babatope BO, Bamidele MK. Periodontitis and systemic diseases: A literature review. *J Indian Soc Periodontol.* 2012;16(4):487.
26. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):1-6.
27. 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. *J Periodontol.* 2018;89:S1-S8.
28. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Periodontol.* 2018;89:S9-S16.
29. 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. *J Periodontol.* 2018;89:S74-S84.
30. Huang S, Li Z, He T, Bo C, Chang J, Li L, et al. Microbiota-based signature of gingivitis treatments: a randomized study. *Sci Rep.* 2016;6(1):1-9.
31. Orban B. Clinical and histologic study of the surface characteristics of the gingiva. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1948;1(9):827-41.
32. Lang NP, Schätzle MA, Loe H. Gingivitis as a risk factor in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2009;36:3-8.

33. Sheiham A. Is the chemical prevention of gingivitis necessary to prevent severe periodontitis? *Periodontol 2000*. 1997;15:15-24.
34. Holmstrup P, Plemons J, Meyle J. Non-plaque-induced gingival diseases. *J Clin Periodontol*. 2018;45:S28-S43.
35. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018;89:S159-S72.
36. Shimono M, Ishikawa T, Ishikawa H, Matsuzaki H, Hashimoto S, Muramatsu T, et al. Regulatory mechanisms of periodontal regeneration. *Microsc Res Tech*. 2003;60(5):491-502.
37. Souto GR, Queiroz Jr CM, Costa FO, Mesquita RA. Relationship between chemokines and dendritic cells in human chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2014;85(10):1416-23.
38. Hajishengallis G, Korostoff JM. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. *Periodontol 2000*. 2017;75(1):116-51.
39. Lindhe J, Hamp SE, Löe H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodontal Res*. 1973;8(1):1-10.
40. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976;34(3):235-49.
41. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*. 1997;14(1):216-48.
42. Seymour G, Powell R, Aitken J. Experimental gingivitis in humans: a clinical and histologic investigation. *J Periodontol*. 1983;54(9):522-8.
43. Amato R, Caton J, Poison A, Espeland M. Interproximal gingival inflammation related to the conversion of a bleeding to a nonbleeding state. *J Periodontol*. 1986;57(2):63-8.

44. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2014;64(1):57-80.
45. Fiorellini J, Uzel DKN. Gingival Inflammation. In: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Fermin A. Carranza, editors. *Carranza's Clinical Periodontology* 11th Edition. China: W. B Saunders Company; 2012. p. 71-5.
46. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol*. 2005;43(11):5721-32.
47. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res*. 1994;8(2):263-71.
48. Marsh P. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res*. 2004;38(3):204-11.
49. Gilbert P, Allison D, McBain A. Biofilms in vitro and in vivo: do singular mechanisms imply cross-resistance? *J Appl Microbiol*. 2002;92:98S-110S.
50. Kolenbrander PE, Palmer Jr RJ, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol* 2000. 2006;42(1):47-79.
51. Hooper SJ, Wilson MJ, Crean SJ. Exploring the link between microorganisms and oral cancer: a systematic review of the literature. *Head Neck*. 2009;31(9):1228-39.
52. Kuboniwa M, Lamont RJ. Subgingival biofilm formation. *Periodontol* 2000. 2010;52(1):38-52.
53. Yao E, Lament R, Leu S, Weinberg A. Interbacterial binding among strains of pathogenic and commensal oral bacterial species. *Oral Microbiol Immunol*. 1996;11(1):35-41.
54. Nagayama M, Sato M, Yamaguchi R, Tokuda C, Takeuchi H. Evaluation of co-aggregation among *Streptococcus mitis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*. *Lett Appl Microbiol*. 2001;33(2):122-5.
55. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*. 1995;49(1):711-45.

56. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand.* 2001;59(3):167-73.
57. Lamster IB, Novak MJ. Host mediators in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1992;3(1):31-60.
58. Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol.* 1996;67:1041-9.
59. Abbas A, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology* 8th Edition: Saunders; 2014.
60. Van Dyke TE, Kornman KS. Inflammation and factors that may regulate inflammatory response. *J Periodontol.* 2008;79:1503-7.
61. Kinane DF, Podmore M, Ebersole J. Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents. *Periodontol 2000.* 2001;26(1):54-91.
62. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2001;25(1):8-20.
63. Nisengard RJ. Microbial interactions with the host in periodontal diseases. *Carranza's Clinical periodontology.* 2006:228-50.
64. Zadeh HH, Nichols FC, Miyasaki KT. The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Periodontol 2000.* 1999;20(1):239-88.
65. Rietschel ET, Brade H. Bacterial endotoxins. *Sci Am.* 1992;267(2):54-61.
66. Nichols TC, Fischer TH, Deliargyris EN, Baldwin Jr AS. Role of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) in inflammation, periodontitis, and atherogenesis. *Ann Periodontol.* 2001;6(1):20-9.
67. Kim HM, Park BS, Kim J-I, Kim SE, Lee J, Oh SC, et al. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell.* 2007;130(5):906-17.
68. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(7):499-511.

69. Mahanonda R, Pichyangkul S. Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*. 2007;43(1):41-55.
70. Haffajee A, Dibart S, Kent Jr R, Socransky S. Factors associated with different responses to periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1995;22(8):628-36.
71. Smalley J. Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Adv Dent Res*. 1994;8(2):320-8.
72. Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res*. 1993;28(7):500-10.
73. Hupp JR, Ferneini EM. Head, neck, and orofacial infections: an interdisciplinary approach: Elsevier Health Sciences; 2015.
74. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998;392(6673):245-52.
75. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontol 2000*. 2007;43(1):14-40.
76. Huntington ND, Carpentier S, Vivier E, Belz GT. Innate lymphoid cells: parallel checkpoints and coordinate interactions with T cells. *Curr Opin Immunol*. 2016;38:86-93.
77. Ebersole JL, Graves CL, Gonzalez OA, Dawson III D, Morford LA, Huja PE, et al. Aging, inflammation, immunity and periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2016;72(1):54-75.
78. Mosmann TR, Coffman R. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*. 1989;7(1):145-73.
79. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 1997;14(1):112-43.
80. Schenkein HA. Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2006;40(1):77-93.

81. Kurgan S, Kantarci A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. *Periodontol* 2000. 2018;76(1):51-67.
82. Kornman KS. Host modulation as a therapeutic strategy in the treatment of periodontal disease. *Clin Infect Dis*. 1999;28(3):520-6.
83. Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontol* 2000. 2003;31(1):135-66.
84. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol* 2000. 2003;31(1):43-54.
85. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontol* 2000. 2004;34(1):109-19.
86. Alfano MC. The origin of gingival fluid. *J Theor Biol*. 1974;47(1):127-36.
87. Pashley D. A mechanistic analysis of gingival fluid production. *J Periodontal Res*. 1976;11(2):121-34.
88. Uitto VJ. Gingival crevice fluid—an introduction. *Periodontol* 2000. 2003;31(1):9-11.
89. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol* 2000. 2016;70(1):53-64.
90. Gupta G. Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator-I: Host derived enzymes and tissue breakdown products. *J Med Life*. 2012;5(4):390.
91. Borden S, Golub L, Kleinberg I. The effect of age and sex on the relationship between crevicular fluid flow and gingival inflammation in humans. *J Periodontal Res*. 1977;12(3):160-5.
92. Page RC. Host response tests for diagnosing periodontal diseases. *J Periodontol*. 1992;63:356-66.
93. Akpınar A, Marakoğlu İ. Dişeti oluşu sıvısı ve toplama yöntemleri. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*. 2002;5:45-8.
94. Smith QT, Au GS, Freese PL, Osborn JB, Stoltenberg JL. Five parameters of gingival crevicular fluid from eight surfaces in periodontal health and disease. *J Periodontal Res*. 1992;27(5):466-75.

95. Smith Q, Geegan S. Repeated measurement of crevicular fluid parameters at different sites. *J Clin Periodontol*. 1991;18(3):171-6.
96. Lamster IB, Oshrain RL, Celenti R, Levine K, Fine JB. Correlation analysis for clinical and gingival crevicular fluid parameters at anatomically related gingival sites. *J Clin Periodontol*. 1991;18(4):272-7.
97. Pöllänen MT, Salonen JJ, Uitto VJ. Structure and function of the tooth–epithelial interface in health and disease. *Periodontol 2000*. 2003;31(1):12-31.
98. Battino M, Ferreiro M, Gallardo I, Newman H, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol*. 2002;29(3):189-94.
99. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003;31(1):55-76.
100. Brill N, Krasse B. Effect of mechanical stimulation on flow of tissue fluid through gingival pocket epithelium. *Acta Odontol Scand*. 1959;17(2):115-30.
101. Lamster I, Harper D, Goldstein S, Celenti R, Oshrain R. The effect of sequential sampling on crevicular fluid volume and enzyme activity. *J Clin Periodontol*. 1989;16(4):252-8.
102. Challacombe S, Russell M, Hawkes J. Passage of intact IgG from plasma to the oral cavity via crevicular fluid. *Clin Exp Immunol*. 1978;34(3):417.
103. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003;31(1):32-42.
104. Skapski H, Lehner T. A crevicular washing method for investigating immune components of crevicular fluid in man. *J Periodontal Res*. 1976;11(1):19-24.
105. Majeed ZN, Philip K, Alabsi A, Pushparajan S, Swaminathan D. Identification of gingival crevicular fluid sampling, analytical methods, and oral biomarkers for the diagnosis and monitoring of periodontal diseases: A systematic review. *Dis Markers*. 2016;2016.
106. Cimasoni G. Crevicular fluid updated. *Monogr Oral Sci*. 1983;12:24-8,104-23.
107. Brill N. *The Gingival Pocket Fluid: Studies of Its Occurrence, Composition, and Effect*: Royal Dental College, Copenhagen; 1962.

108. Loe H. Absence and presence of fluid normal and inflamed gingivae. *Periodontics*. 1965;3:171-7.
109. Ozkavaf A, Aras H, Huri C, Yamalik N, Kiliç A, Kiliç K, et al. Analysis of factors that may affect the enzymatic profile of gingival crevicular fluid: sampling technique, sequential sampling and mode of data presentation. *J Oral Sci*. 2001;43(1):41-8.
110. Tsuchida K, Hara K. Clinical significance of gingival fluid measurement by “Periotron”. *J Periodontol*. 1981;52(11):697-700.
111. Egelberg J, Attström R. Comparison between orifice and intracrevicular methods of sampling gingival fluid. *J Periodontal Res*. 1973;8(6):384-8.
112. 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. *J Oral Sci*. 2000;42(4):231-8.
113. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9(3):248-66.
114. Balkwill F, Burke F. The cytokine network. *Immunol Today*. 1989;10(9):299-304.
115. Dinarello CA. Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *Int Rev Immunol*. 1998;16(5-6):457-99.
116. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Basic immunology: functions and disorders of the immune system: Elsevier Health Sciences; 2014.
117. Rothman P, Kreider B, Azam M, Levy D, Wegenka U, Eilers A, et al. Cytokines and growth factors signal through tyrosine phosphorylation of a family of related transcription factors. *Immunity*. 1994;1(6):457-68.
118. Takashiba S, Naruishi K, Murayama Y. Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. *J Periodontol*. 2003;74(1):103-10.
119. Landi L, Amar S, Polins AS, Van TD. Host mechanisms in the pathogenesis of periodontal disease. *Curr Opin Periodontol*. 1997;4:3-10.
120. De Nardin E. The role of inflammatory and immunological mediators in periodontitis and cardiovascular disease. *Ann Periodontol*. 2001;6(1):30-40.

121. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*. 2008;79:1569-76.
122. Kawai T, Eisen-Lev R, Seki M, Eastcott JW, Wilson ME, Taubman MA. Requirement of B7 costimulation for Th1-mediated inflammatory bone resorption in experimental periodontal disease. *J Immunol*. 2000;164(4):2102-9.
123. Lappin D, MacLeod C, Kerr A, Mitchell T, Kinane D. Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. *Clin Exp Immunol* 2001;123(2):294-300.
124. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol* 2000. 2008;48(1):92-110.
125. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*. 2018;281(1):8-27.
126. Dinarello CA. Inflammatory cytokines: interleukin-1 and tumor necrosis factor as effector molecules in autoimmune diseases. *Curr Opin Immunol*. 1991;3(6):941-8.
127. Newton R. The production of human interleukin-1 beta by blood monocytes. *Prog Clin Biol Res*. 1990;349:217-28.
128. Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood*. 1991;77(8):1627-52
129. Tocci MJ. Structure and function of interleukin-1 β converting enzyme. *Vitamins & Hormones*. 53: Elsevier; 1997. p. 27-63.
130. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:519-50.
131. Tanabe N, Maeno M, Suzuki N, Fujisaki K, Tanaka H, Ogiso B, et al. IL-1 α stimulates the formation of osteoclast-like cells by increasing M-CSF and PGE2 production and decreasing OPG production by osteoblasts. *Life Sci*. 2005;77(6):615-26.
132. Delaleu N, Bickel M. Interleukin-1 β and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontol* 2000. 2004;35(1):42-52.

133. Brechter AB, Persson E, Lundgren I, Lerner UH. Kinin B1 and B2 receptor expression in osteoblasts and fibroblasts is enhanced by interleukin-1 and tumour necrosis factor- α . Effects dependent on activation of NF- κ B and MAP kinases. *Bone*. 2008;43(1):72-83.
134. Kinane D, Berglundh T. Host-parasite interactions in periodontal disease. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T, editors. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 4: Blackwell Munksgaard Oxford; 2003. p. 150-78.
135. Liu YCG, Lerner UH, Teng YTA. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*. 2010;52(1):163-206.
136. Auerkari E, Suhartono A, Djamal NZ, Verisqa F, Suryandari DA, Kusdhany L, et al. CRP and IL-1B gene polymorphisms and CRP in blood in periodontal disease. *Open Dent J*. 2013;7:88.
137. Oduncuoglu B, Kayar N, Haliloglu S, Serpek B, Ataoglu T, Alptekin N. Effects of a Cyclic NSAID Regimen on Levels of Gingival Crevicular Fluid Prostaglandin E₂ and Interleukin-1 β : A 6-month Randomized Controlled Clinical Trial. *Niger J Clin Pract*. 2018;21(5):658-66.
138. Shen P, Roch T, Lampropoulou V, O'Connor RA, Stervbo U, Hilgenberg E, et al. IL-35-producing B cells are critical regulators of immunity during autoimmune and infectious diseases. *Nature*. 2014;507(7492):366-70.
139. Wang R-X, Yu C-R, Dambuza IM, Mahdi RM, Dolinska MB, Sergeev YV, et al. Interleukin-35 induces regulatory B cells that suppress autoimmune disease. *Nat Med*. 2014;20(6):633-41.
140. Vignali DA, Kuchroo VK. IL-12 family cytokines: immunological playmakers. *Nat Immunol*. 2012;13(8):722.
141. Garbers C, Hermanns HM, Schaper F, Müller-Newen G, Grötzinger J, Rose-John S, et al. Plasticity and cross-talk of interleukin 6-type cytokines. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2012;23(3):85-97.
142. Hasegawa H, Mizoguchi I, Chiba Y, Ohashi M, Xu M, Yoshimoto T. Expanding Diversity in Molecular Structures and Functions of the IL-6/IL-12 Heterodimeric Cytokine Family. *Front Immunol*. 2016;7(479).

143. Kaplan MJ. Neutrophils in the pathogenesis and manifestations of SLE. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(12):691-9.
144. Smith CK, Kaplan MJ. The role of neutrophils in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol*. 2015;27(5):448-53.
145. Ramnath D, Tunny K, Hohenhaus DM, Pitts CM, Bergot AS, Hogarth PM, et al. TLR3 drives IRF6-dependent IL-23p19 expression and p19/EBI3 heterodimer formation in keratinocytes. *Immunol Cell Biol*. 2015;93(9):771-9.
146. Huynh J, Scholz GM, Aw J, Kwa MQ, Achuthan A, Hamilton JA, et al. IRF6 regulates the expression of IL-36 γ by human oral epithelial cells in response to *porphyromonas gingivalis*. *J Immunol*. 2016;196(5):2230-8.
147. Scholz GM, Heath JE, Walsh KA, Reynolds EC. MEK-ERK signaling diametrically controls the stimulation of IL-23p19 and EBI3 expression in epithelial cells by IL-36 γ . *Immunol Cell Biol*. 2018;96(6):646-55.
148. Silness J, L  e H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*. 1964;22(1):121-35.
149. L  e H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand*. 1963;21(6):533-51.
150. Joss A, Adler R, Lang NP. Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *J Clin Periodontol*. 1994;21(6):402-8.
151. Kurtiş B, T  ter G, Serdar M, Pınar S, Demirel   , Toyman U. Gingival crevicular fluid prostaglandin E2 and thiobarbituric acid reactive substance levels in smokers and non-smokers with chronic periodontitis following phase I periodontal therapy and adjunctive use of flurbiprofen. *J Periodontol*. 2007;78(1):104-11.
152. Becerik S,   zt  rk V  , Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *J Periodontol*. 2012;83(10):1304-13.
153. Chapple I, Landini G, Griffiths G, Patel N, Ward R. Calibration of the Periotron 8000   and 6000   by polynomial regression. *J Periodontal Res*. 1999;34(2):79-86.

154. Epelman S, Berenger B, Stack D, Neely GG, Ma LL, Mody CH. Microbial products activate monocytic cells through detergent-resistant membrane microdomains. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008;39(6):657-65.
155. Kinane D, Attström R. Advances in the pathogenesis of periodontitis. Group B consensus report of the fifth European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005;32:130.
156. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3(1):1-14.
157. Lamster IB, Oshrain RL, Fiorello LA, Celenti RS, Gordon JM. A comparison of 4 methods of data presentation for lysosomal enzyme activity in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol*. 1988;15(6):347-52.
158. Gupta G. Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator-II: Inflammatory mediators, host-response modifiers and chair side diagnostic aids. *J Med Life*. 2013;6(1):7.
159. 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. *J Clin Periodontol*. 1996;23(9):832-8.
160. Preianò M, Maggisano G, Lombardo N, Montalcini T, Paduano S, Pelaia G, et al. Influence of storage conditions on MALDI-TOF MS profiling of gingival crevicular fluid: Implications on the role of S100A8 and S100A9 for clinical and proteomic based diagnostic investigations. *Proteomics*. 2016;16(6):1033-45.
161. Rossomando E, Kennedy J, Hadjimichael J. Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Arch Oral Biol*. 1990;35(6):431-4.
162. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interleukin-1 β , -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol*. 2000;71(10):1535-45.
163. Lamster IB, Hartley LJ, Vogel RI. Development of a biochemical profile for gingival crevicular fluid: methodological considerations and evaluation of collagen-

degrading and ground substance-degrading enzyme activity during experimental gingivitis. *J Periodontol.* 1985;56:13-21.

164. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottega S, Orlandini E, Tosi M. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: II. Identification of “high-responder” and “low-responder” subjects. *J Clin Periodontol.* 2004;31(4):239-52.

165. Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1098(1):216-29.

166. Sakallıoğlu EE, Lütfioğlu M, Sakallıoğlu U, Dıraman E, Keskiner İ. Fluid dynamics of gingiva in diabetic and systemically healthy periodontitis patients. *Arch Oral Biol.* 2008;53(7):646-51.

167. Emingil G, Çınarcık S, Baylas H, Hüseyinov A. Levels of platelet-activating factor in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *J Periodontol.* 2001;72(8):1032-7.

168. Egelberg J. Permeability of the dento-gingival blood vessels: III. Chronically inflamed gingivae. *J Periodontal Res.* 1966;1(4):287-96.

169. Hancock E, Cray R, O'leary T. The relationship between gingival crevicular fluid and gingival inflammation: A clinical and histologic study. *J Periodontol.* 1979;50(1):13-9.

170. Griffiths G, Sterne J, Wilton J, Eaton K, Johnson N. Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents. *J Clin Periodontol.* 1992;19(7):464-70.

171. Presbaw PM, Taylor JJ. Periodontal Pathogenesis. In: Newman Mg, Takei Hh, Carranza Fa, Klokkevold Pr, editors. *Clinical Periodontology.* 11 ed. China: W. B Saunders Company, 2012;194-216.

172. Wassall RR, Preshaw PM. Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontol 2000.* 2016;70(1):65-79.

173. Jaedicke KM, Taylor JJ, Preshaw PM. Validation and quality control of ELISAs for the use with human saliva samples. *J Immunol Methods.* 2012;377(1-2):62-5.

174. Shah K, Maghsoudlou P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2016;77(7):C98-C101.
175. Burt B. Position paper: epidemiology of periodontal diseases. *J Periodontol*. 2005;76(8):1406-19.
176. Renvert S, Persson RE, Persson GR. Tooth loss and periodontitis in older individuals: results from the Swedish National Study on Aging and Care. *J Periodontol*. 2013;84(8):1134-44.
177. Locker D, Slade GD, Murray H. Epidemiology of periodontal disease among older adults: a review. *Periodontol 2000*. 1998;16:16.
178. Brown LJ, Oliver R, Loe H. Evaluating periodontal status of US employed adults. *J Am Dent Assoc*. 1990;121(2):226-32.
179. Norderyd O, Hugoson A. Risk of severe periodontal disease in a Swedish adult population: A cross-sectional study. *J Clin Periodontol*. 1998;25(12):1022-8.
180. Curtis M, Gillett I, Griffiths G, Maiden M, Sterne J, Wilson D, et al. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases: laboratory markers from analysis of gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol*. 1989;16(1):1-11.
181. Page RC. Periodontal Diseases in the Elderly: A Critical Evaluation of Current Information. *Gerodontology*. 1984;3(1):63-70.
182. Burt BA. Periodontitis and aging: reviewing recent evidence. *J Am Dent Assoc*. 1994;125(3):273-9.
183. Abdellatif H, Burt B. An epidemiological investigation into the relative importance of age and oral hygiene status as determinants of periodontitis. *J Dent Res*. 1987;66(1):13-8.
184. Machtie E, Dunford R, Grossi S, Genco R. Cumulative nature of periodontal attachment loss. *J Periodontal Res*. 1994;29(5):361-4.
185. Susin C, Vecchia CFD, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM. Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. *J Periodontol*. 2004;75(7):1033-41.

186. Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2002;29(1):177-206.
187. Silva-Boghossian CM, Luiz RR, Colombo APV. Periodontal status, sociodemographic, and behavioral indicators in subjects attending a public dental school in Brazil: analysis of clinical attachment loss. *J Periodontol*. 2009;80(12):1945-54.
188. Khader YS, Rice JC, Lefante JJ. Factors associated with periodontal diseases in a dental teaching clinic population in northern Jordan. *J Periodontol*. 2003;74(11):1610-7.
189. Susin C, Haas AN, Valle PM, Oppermann RV, Albandar JM. Prevalence and risk indicators for chronic periodontitis in adolescents and young adults in south Brazil. *J Clin Periodontol*. 2011;38(4):326-33.
190. Kinane DF. Periodontitis modified by systemic factors. *Ann Periodontol*. 1999;4(1):54-63.
191. Tonetti MS, Van Dyke TE, workshop* wgotjEA. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAPWorkshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol*. 2013;84:S24-S9.
192. Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol*. 1991;62(2):123-31.
193. Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol*. 1996;1(1):1-36.
194. Clothier B, Stringer M, Jeffcoat MK. Periodontal disease and pregnancy outcomes: exposure, risk and intervention. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007;21(3):451-66.
195. Sakellari D, Goodson J, Socransky S, Kolokotronis A, Konstantinidis A. Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva. *J Clin Periodontol*. 2000;27(1):53-60.
196. Cetinkaya B, Guzeldemir E, Ogus E, Bulut S. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid and serum of patients with

rheumatoid arthritis and patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2013;84(1):84-93.

197. Ryder MI. The influence of smoking on host responses in periodontal infections. *Periodontol 2000.* 2007;43:267-77.

198. Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. *J Periodontol.* 2000;71(5):743-51.

199. Zambon J, Grossi S, Machtei E, Ho A, Dunford R, Genco R. Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. *J Periodontol.* 1996;67:1050-4.

200. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-6 and interleukin-8 levels in chronic periodontitis. *Int J Dent.* 2012;2012.

201. Persson L, Bergström J, Gustafsson A, Asman B. Tobacco smoking and gingival neutrophil activity in young adults. *J Clin Periodontol.* 1999;26(1):9-13.

202. Trikilis N, Rawlinson A, Walsh TF. Periodontal probing depth and subgingival temperature in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol.* 1999;26(1):38-43.

203. Hanioka T, Tanaka M, Takaya K, Matsumori Y, Shizukuishi S. Pocket oxygen tension in smokers and non-smokers with periodontal disease. *J Periodontol.* 2000;71(4):550-4.

204. Pabst MJ, Pabst KM, Collier JA, Coleman TC, Lemons-Prince ML, Godat MS, et al. Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. *J Periodontol.* 1995;66(12):1047-55.

205. Preber H, Bergström J. Occurrence of gingival bleeding in smoker and non-smoker patients. *Acta Odontol Scand.* 1985;43(5):315-20.

206. Albandar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontol 2000.* 2002;29(1):7-10.

207. Machtet EE, Christersson LA, Grossi SG, Dunford R, Zambon JJ, Genco RJ. Clinical criteria for the definition of “established periodontitis”. *J Periodontol.* 1992;63(3):206-14.

208. Lin C, Chen F, Hariri A, Chen C, Wilder-Smith P, Takesh T, et al. Photoacoustic imaging for noninvasive periodontal probing depth measurements. *J Dent Res*. 2018;97(1):23-30.
209. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. 2007;78:1387-99.
210. Lang NP, Adler R, Joss A, Nyman S. Absence of bleeding on probing an indicator of periodontal stability. *J Clin Periodontol*. 1990;17(10):714-21.
211. Leroy R, Eaton KA, Savage A. Methodological issues in epidemiological studies of periodontitis-how can it be improved? *BMC Oral Health*. 2010;10(1):8.
212. Nakashima K, Demeurisse C, Cimasoni G. The recovery efficiency of various materials for sampling enzymes and polymorphonuclear leukocytes from gingival crevices. *J Clin Periodontol*. 1994;21(7):479-83.
213. Hou LT, Liu CM, Rossomando EF. Crevicular interleukin-1 β in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment. *J Clin Periodontol*. 1995;22(2):162-7.
214. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 β and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent*. 2004;32(7):511-20.
215. Oh H, Hirano J, Takai H, Ogata Y. Effects of initial periodontal therapy on interleukin-1 β level in gingival crevicular fluid and clinical periodontal parameters. *J Oral Sci*. 2015;57(2):67-71.
216. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1 β profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2002;29(1):48-53.
217. 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 Microbiol Immunol*. 2006;21(4):256-60.
218. Faizuddin M, Bharathi S, Rohini N. Estimation of interleukin-1 β levels in the gingival crevicular fluid in health and in inflammatory periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2003;38(2):111-4.

219. Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 β concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 1994;65(5):423-8.
220. Hönig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Increased interleukin-1 beta (IL-1 β) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 1989;24(6):362-7.
221. Zhong Y, Slade G, Beck J, Offenbacher S. Gingival crevicular fluid interleukin-1 β , prostaglandin E2 and periodontal status in a community population. *J Clin Periodontol.* 2007;34(4):285-93.
222. Tüter G, Kurtiş B, Serdar M. Interleukin-1 β and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2001;72(7):883-8.
223. Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 β and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol.* 1995;66(10):852-9.
224. Fitzsimmons T, Sanders A, Slade G, Bartold P. Biomarkers of periodontal inflammation in the Australian adult population. *Aust Dent J.* 2009;54(2):115-22.
225. Ertugrul A, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan N, Bozoglan A. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 β and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. *J Periodontal Res.* 2013;48(1):44-51.
226. Wang X, Zhang Y, Wang Z, Liu X, Zhu G, Han G, et al. Anti-IL-39 (IL-23p19/Ebi3) polyclonal antibodies ameliorate autoimmune symptoms in lupus-like mice. *Mol Med Rep.* 2018;17(1):1660-6.
227. Manning AA, Zhao L, Zhu Z, Xiao H, Redington CG, Ding VA, et al. IL-39 acts as a friend to pancreatic cancer. *Med Oncol.* 2019;36(1):12.
228. Detry S, Składanowska K, Vuylsteke M, Savvides SN, Bloch Y. Revisiting the combinatorial potential of cytokine subunits in the IL-12 family. *Biochem Pharmacol.* 2019;165:240-8.
229. Bridgewood C, Alase A, Watad A, Wittmann M, Cuthbert R, McGonagle D. The IL-23p19/EBI3 heterodimeric cytokine termed IL-39 remains a theoretical cytokine in man. *Inflamm Res.* 2019;68(6):423-6.

230. Luo Y, Liu F, Liu H, Chen H, Cheng W, Dong S, et al. Elevated serum IL-39 in patients with ST-segment elevation myocardial infarction was related with left ventricular systolic dysfunction. *Biomark Med.* 2017;11(6):419-26.
231. Yang M-G, Tian S, Zhang Q, Han J, Liu C, Zhou Y, et al. Elevated serum interleukin-39 levels in patients with neuromyelitis optica spectrum disorders correlated with disease severity. *Mult Scler Relat Disord.* 2020;46:102430.

