

**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PERİODONTAL AÇIDAN SAĞLIKLI VE PERİODONTAL HASTALIĞA
SAHİP BİREYLERİN SERUM, TÜKÜRÜK VE DİŞETİ OLUĞU SIVISI
ÖRNEKLERİNDE IL-36y, IL-38, IL-17 VE MMP-9 DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. HİİAL KORKMAZ

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mükerrrem HATİPOĞLU

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 5151 proje numarası ile desteklenmiştir.

2022-ANTALYA

ONAY SAYFASI

Dt.Hilal KORKMAZ tarafından sunulan bu çalışma jürimiz tarafından **oy birliği/oy çokluğu** ile Periodontoloji Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.
22/02/2022

İmza

Üye : Prof. Dr. Nilgün Özlem ALPTEKİN

Üye : Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN

Üye :Doç. Dr. Mükerrerem HATİPOĞLU

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

Diş Hekimliği Fakültesi

Kurum Yöneticisi

ETİK BEYAN

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

Aday

Dt.Hilal KORKMAZ

İmza

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Mükerrerem HATİPOĞLU

İmza

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle bana yol göstererek akademik hayatta gelişmeme yardımcı olan, tezimin her aşamasında büyük bir özveri ile deneyim ve görüşlerini paylaşan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Doç.Dr. Mükerrerem HATİPOĞLU'na;

Uzmanlık eğitimim boyunca görüş ve önerileri, bilgisi ve deneyimi ile elini üstümden hiç çekmeyen, tezimin her aşamasına dahil olarak yardımlarını esirgemeyen anabilim dalı başkanı Sayın Prof.Dr. Kemal ÜSTÜN'e,

Uzmanlık eğitimim süresince klinik bilgi ve tecrübelerini özveri ile paylaşarak üzerimde büyük emeği olan, görüş ve önerilerini saygıyla dikkate aldığım Sayın Doç.Dr. Nezahat Arzu KAYAR'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve görüşlerini cömertçe paylaşan güleryüzlülüğü ve naifliği ile desteğini her daim hissettiğim Sayın Dr.Öğr. Üyesi Özlem DALTABAN'a,

Uzmanlık hayatım boyunca klinik bilgi ve tecrübelerini hiç çekinmeden paylaşarak bana abi ve abla olan, hayatımın her döneminde yanımda olacaklarını bildiğim; başta Uzm. Dt. Dilara SEZEN KORANA olmak üzere periodontoloji anabilim dalının çok kıymetli kıdemli asistanları Uzm. Dt. Mustafa Burak DEMİRCİ, Uzm. Dt. Kazım KORKMAZ, Uzm. Dt. Murat ÇALIŞIR, Uzm. Dt. Mehmet Can KILINÇASLAN, Dr. Dt. Zeliha AYTEKİN ve Arş. Gör. Fatma KÖKSAL BABUN'a,

Uzmanlık eğitimi sayesinde tanıdığım ve eğitim süresi boyunca sosyal ve iş yaşamında desteğini ve arkadaşlığını en içten şekilde hissettiğim, tez dönemi boyunca varlığı ile güç veren sevgili arkadaşım Uzm. Dt. Özge ÖZDEMİR'e,

Uzmanlık eğitimimin son döneminde çalışma fırsatı bulduğum ve çalışmaktan zevk aldığım Arş. Gör. Dt. Mehmet BÜYÜKTARAKCI'ya,

Periodontoloji anabilim dalı'nın güleryüzlü ve yardımsever destek personeli çok kıymetli Ahmet ÖZMEN ve Halil TURGUT'a,

Daima yanımda olan biricik ailem; babam Ali KORKMAZ, annem Azime KORKMAZ, canım kardeşim Afşin KORKMAZ'a ve sevgili Anıl KARADENİZ'e sonsuz teşekkürler

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı; periodontal açıdan sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerin diş eti oluğu sıvısı (DOS), tükürük ve serum sıvılarındaki matriks metalloproteinaz (MMP)-9, interlökin (IL)-17, IL-36-gama (γ) ve IL-38 seviyelerinin tespit edilmesi, karşılaştırılması ve klinik parametreler ile ilişkilerinin değerlendirilmesidir.

Yöntem: DOS, tam tükürük ve serum örnekleri sistemik olarak sağlıklı ve sigara içmeyen periodontal açıdan sağlıklı (S, n=30), gingivitis (G, n=30) ve periodontitis (P, n=30) tanılı bireylerden toplandı. Çalışmaya dahil edilen bireylerin plak indeks (Pİ), gingival indeks (Gİ), sondlamada cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), ve sondlamada kanama yüzdesini (SK) içeren klinik periodontal kayıtları kaydedildi. Toplanan örneklerin analizleri için enzim bağılı immun absorbans yöntem (ELİSA) kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar ve post hoc istatistiksel analizler için sırasıyla Kruskal-Wallis testi ve Bonferroni düzeltmesi yapıldı.

Bulgular: Gruplar arası yapılan karşılaştırmada DOS, tükürük ve serum MMP-9, IL-17, IL-36 γ ve IL-38 seviyelerinin sağlıklı grupta periodontitis grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu saptandı ($p<0,001$). Tüm numunelerdeki biyokimyasal parametreler sağlıklı grupta gingivitis grubundan daha düşük periodontitis grubunda ise her iki gruba göre daha yüksek miktarlarda ölçüldü. Serum MMP-9 konsantrasyonu hariç diğer biyolojik sıvılardaki MMP-9, IL-17, IL-36 γ ve IL-38 seviyeleri ile klinik parametreler arasında da pozitif yönde anlamlı bir ilişki vardı ($p<0,001$).

Sonuç: Periodontitisteki doku yıkımından sorumlu MMP-9 ve IL-17 ile IL-36 γ ve IL-38 arasında görülen korelasyonlar sebebiyle IL-36 γ ve IL-38'in periodontal hastalık patofizyolojisinin aydınlatılamayan yönlerinin açıklanması için önem taşıyan biyolojik belirteçler olabileceği düşünülmektedir. Öte yandan bu çalışma, diğer çalışmalar için yol gösterici olmakla beraber uzun dönem takip çalışmaları ve farklı inceleme metodları kullanılan daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: MMP-9, IL-17, IL-36 γ , IL-38, periodontitis

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to determined and compared the levels of matrix metalloproteinase (MMP)-9, interleukin (IL)-17, IL-36-gamma (γ) and IL-38 in the gingival crevicular fluid (GCF), saliva and serum fluids of individuals with periodontally healthy and periodontal disease, and to evaluated their relationship with clinical parameters.

Method: GCF, whole saliva and serum samples were collected from systemically healthy and non-smoker; periodontally healthy (S, n=30), gingivitis (G, n=30) and periodontitis (P, n=30) individuals. Clinical periodontal records of the individuals included in the study, including plaque index (PI), gingival index (GI), pocket depth (PD), clinical attachment level (CAL), and percentage of bleeding on probing (BOP), were recorded. Enzyme-linked immune absorbent method (ELISA) was used for the analysis of the collected samples. Kruskal-Wallis test and Bonferroni correction were performed for multiple comparisons and post hoc statistical analyses, respectively.

Results: All clinical parameters; PI, GI, SCD, CAL and BOP (%) showed statistically significant positive correlations among themselves ($p<0.001$). In the comparison between the groups GCF, saliva and serum MMP-9, IL-17, IL-36 γ and IL-38 levels were found to be statistically significantly lower in the healthy group compared to the periodontitis group ($p<0.001$). Biochemical parameters in all samples were measured in lower amounts in the healthy group than in the gingivitis group, and higher in the periodontitis group compared to both groups. Except for serum MMP-9 concentration, there is a significant positive correlation between clinical parameters and MMP-9, IL-17, IL-36 γ and IL-38 levels in other biological fluids ($p<0.001$).

Conclusion: Because of the correlations between MMP-9 and IL-17, which are responsible for tissue destruction in periodontitis, and IL-36 γ and IL-38; it is suggesting that IL-38 and IL-36 γ may be important biological markers for detecting the unexplained aspects of periodontal disease pathophysiology. On the other hand, although this study is a guide for other studies, there is a need for long-term follow-up studies and more research that using different examination methods.

Keywords: MMP-9, IL-17, IL-36 γ , IL-38, periodontitis

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periodontal Sağlık	4
2.2. Plağa Bağlı Gingivitis	5
2.3. Periodontitis	7
2.4. Periodontal Hastalıkların Etyopatogenezi	11
2.5. Periodontal Hastalıkların Patogenezi	13
2.6. Periodontal Hastalıkta Matriks Metalloproteinazlar	18
2.7. Periodontal Hastalıkta Sitokinler	21
2.8. Diş Eti Oluğu Sıvısı ve Periodontal Hastalık	28
2.9. Tükürük ve Periodontal Hastalık	31
2.10. Serum ve Periodontal Hastalık	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	34
3.1. Hasta Seçimi	34
3.2. Çalışma Gruplarının	34
3.3. Klinik Değerlendirmeler	35
3.3.1. Plak İndeksi	36
3.3.2. Gingival İndeksi	36
3.3.3. Sondlanabilir Cep Derinliği	36
3.3.4. Klinik Ataçman Seviyesi	37
3.3.5. Sondlamada Kanama	37
3.4. Biyokimyasal Örneklerin Elde Edilmesi	37
3.4.1. Diş Eti Oluğu Sıvısının Elde Edilmesi	37
3.4.2. Tükürük Örneklerinin Elde Edilmesi	39
3.4.3. Serum Örneklerinin Elde Edilmesi	40

3.5.Laboratuvar İşlemleri	41
3.5.1.DOS MMP-9, IL-36 γ , IL-17, IL-38 Düzeylerinin Belirlenmesi	41
3.5.2.DOS Konsantrasyon ve Total Miktar Değerlerinin Hesaplanması	43
3.5.3.Tükürük MMP-9, IL-36 γ , IL-17, IL-38 Düzeylerinin Belirlenmesi	44
3.5.4.Serum MMP-9, IL-36 γ , IL-17, IL-38 Düzeylerinin Belirlenmesi	44
3.6.İstatistiksel Analiz	45
4. BULGULAR	47
4.1. Demografik Bulgular	47
4.2. Klinik Bulgular	48
4.2.1. Gruplar Arası Tüm Klinik Periodontal Parametreler	48
4.2.2. Periodontitis Grupları Arası Tüm Ağız Klinik Periodontal Parametreler	49
4.2.3. Örneklenen Dişlere Ait Klinik Periodontal Parametreler	50
4.3. Biyokimyasal Bulgular	51
4.3.1. Gruplar Arası Biyokimyasal Bulguların Karşılaştırılması	51
4.3.2. Periodontitis Evrelerine Ait Biyokimyasal Bulguların Karşılaştırılması	56
4.4. Klinik ve Biyokimyasal Verilerin Korelasyon Analizleri	69
4.4.1. Çalışma Geneli Klinik Korelasyonlar	69
4.4.2. Çalışma Geneli DOS Alınan Dişlere Ait Korelasyonlar	69
4.4.3. Çalışma Geneli Klinik Parametreler ile Biyokimyasal Parametreler Arasındaki Korelasyonlar	73
4.4.4. Çalışma Geneli Biyokimyasal Verilerin Birbirleri ile Korelasyonları	87
5. TARTIŞMA	
5.1. Klinik Bulguların Tartışılması	93
5.2. Çalışma Gereçlerinin Tartışılması	95
5.2. Biyokimyasal Bulguların Tartışılması	100

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

KAYNAKLAR

EKLER

EK-1. Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

EK-2 Etik Kurul Onayı

ÖZGEÇMİŞ

SİMGELER ve KISALTMALAR

Aa	Aggregatibacter Actinomycetemcomitans
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
Ca	Kalsiyum
CD	Cluster of differentiation
CRP	C-reaktif Protein
CXCL	Kemokin
C3a	Kompleman Faktör 3a
DOS	Diş Eti Oluğu Sıvısı
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELAM-1	Endothelial-Leukocyte Antigen Molecule-1 “Endotelyal Lökosit Adezyon Molekül 1”
ELİSA	Enzim Bağlı İmmün Absorbans Yöntem
f-MLP	N-formil-metiyonil-lösil-fenilalanin
G-CSF	Granulocyte Colony Stimulating Factor “Granülosit Kolonizasyonunu Uyarıcı Faktör”
GAP	Generalize Agresif Periodontitis
Gİ	Gingival İndeks
HLA	Human Leukocyte Antigen “İnsan Lökosit Antijeni”
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1 “Hücrelerarası Adezyon Molekülü-1”
IL-RacP	Interleukin Receptor Activator Protein “İnterlökin Reseptör Aktive Edici Protein”
IFN	İnterferon
Ig	İmmünoglobulin
IGF	Insulin Like Growht Factor “İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü”

IL	İnterlökin
IL-1Ra	Interleukin-1 Receptor Antagonist “İnterlökin-1 Reseptör Antagonisti”
KAS	Klinik Ataçman Seviyesi
KAK	Klinik Ataşman Kaybı
kDa	Kilodalton
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KP	Kronik Periodontitis
LFA-1	Lymphocyte Function-Associated Antigen-1 “Lenfosit Fonksiyon-İlişkili Antijen 1”
LPS	Lipopolisakkarit
LTA	Lökotrien
LTB4	Lökotrien B4
LXA4	Lipoxin A4
Mac-1	Makrofaj Antijen-1
MAP-k	Monosit Aktive Edici Protein Kinaz
MHC	Major Histocompatibility Complex “Büyük Doku Uygunluk Kompleksi”
Mm	Milimetre
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NF- κ B	Nükleer Faktör kappa beta
NK	Doğal Öldürücü Hücre
OPG	Osteoprotegerin
ORF	Olgu Rapor Formu
PAMP	Pathogen-related Molecular Patterns “Patojen İle İlişkili Moleküler Modeller”

PAI	Plazmojen Aktivatör İnhibitörü
PBS	Fosfat Tamponlayıcı Salin
PECAM	Platelet Endotelial Cell Adhesion Molecule “Trombosit Endotelyal Hücre Adezyon Molekülü”
Pg	Pikogram
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PGN	Peptidoglikan
PI	Plak İndeksi
PMNL	Polimorfonükleer Lökositler
PRR	Pattern Recognizing Receptors “Model Tanıma Reseptörleri”
R	Korelasyon katsayısı
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor kappa β Ligand “Nükleer Faktör Kappa beta Reseptörünü Aktive Edici Ligand”
SCD	Sondlanabilir Cep Derinliği
S.mitis	Streptokokus mitis
SK	Sondlamada Kanama
Sn	Saniye
TGF	Transforming Growht Factor “Dönüştürücü Büyüme Faktörü”
TCR	T Cell Receptor “T Hücre Reseptörü”
Th	T- helper “Yardımcı T Hücresi”
TIMP	Tissue Inhibitors of Metalloproteinases “MMP Doku İnhibitörleri”
TLR	Toll Like Receptor “Toll benzeri reseptör”
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
T. denticola	Treponema Denticola
T. forsythia	Tannerella Forsythia
Treg	Düzenleyici T hücresi

VD	Vazodilatasyon
VK	Vazokonstrüksiyon
Zn	Çinko
Ml	Mikrolitre



ŞEKİLLER

Şekil 2.1.Periodontal sağlıktan periodontal hastalığa kayma

Şekil 2.2.Periodontal dokularda disbiyozis

Şekil 2.3.Subgingival mikrobiyal kompleksler

Şekil 2.4.IL-17 Reseptör Kompleksi

Şekil 2.5.IL-17'nin Enflamatuvar Yanıttaki Rolü

Şekil 2.6.IL-38'in İmmün Mekanizmaları

Şekil 2.7.A:IL-1Ra'nın Kristal Yapısı, B:Hem Kristal Yapı hem de Öngörülen Yapısal Modelin Çakıştırılmış Görüntüsü C:IL-38'in 12-β Zincirli Öngörülen Yapısal Modeli B:Hem Kristal Yapı hem de Öngörülen Yapısal Modelin Çakıştırılmış Görüntüsü

Şekil 3.1.Dişlerin pamuk rulo ve hava spreyi ile kurutulması ve kağıt strip ile DOS alınması

Şekil 3.2.Hamilton şiringası

Şekil 3.3.Tükürük örneklerinin alınması için kullanılan falkon tüp, eppendorf ve pastör pipet

Şekil 3.4.Tükürük örneklerinin, santrifüj edildiği santrifüj cihazı ve örneklerin depolanması

Şekil 3.5.Kan örneklerinin alınması, santrifüj edilmesi, serum elde edilmesi ve depolanması

Şekil 3.6.DOS örneklerinin çözdürüldüğü PBS ve santrifüj edildiği eppendorf santrifüj cihazı

Şekil 3.7.A:ELİSA mikrokuyucuklarının inkübasyona bırakıldığı fırın ve B.Otomatik yıkama cihazı

Şekil 3.8.A: ELİSA mikrokuyucuklarının otomatik yıkama cihazında yıkanması, B:Kuyucukların TMB solüsyonu sonrası mavi renge dönmesi ve C:Stop solüsyonu eklendikten sonra kuyucukların sarı renge dönmesi

Şekil 4.1.DOS Hacimlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Şekil 4.2.DOS MMP-9 ve IL-36γ Total Miktarlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması

Şekil 4.3.DOS IL-17 ve IL-38 Total Miktarlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması

Şekil 4.4.DOS MMP-9 ve IL-36 γ Total Miktarlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması

Şekil 4.5.DOS IL-17 ve IL-38 Konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması

Şekil 4.6.Tükürük MMP-9 ve IL-36 γ konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması

Şekil 4.7.Tükürük IL-17 ve IL-38 konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması

Şekil 4.8.Serum MMP-9 ve IL-36 γ Konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması

Şekil 4.9.Serum IL-17 ve IL-38 Konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması

Şekil 4.10.DOS MMP-9 Total Miktarı ile Tüm Ağız Klinik Parametrelerin Arası İlişki

Şekil 4.11.DOS IL-17 Total Miktarları ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.12.DOS IL-36 γ Total Miktarları ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.13.DOS IL-38 Total Miktarları ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.14.Tükürük MMP-9 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.15.Tükürük IL-17 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.16.Tükürük IL-36 γ Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.17.Tükürük IL-38 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.18. Serum IL-17 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.19.Serum IL-36 γ Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.20.Serum IL-38 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

Şekil 4.21.DOS hacmi ile Biyokimyasal Verilerin DOS Total Miktar Seviyeleri ile Korelasyonu

TABLÖLAR

Tablo 2.1. Periodontal Hastalık Evrelendirmesi

Tablo 2.2. Periodontal Hastalık Derecelendirmesi

Tablo 4.1. Çalışma Gruplarının Demografik Özellikleri

Tablo 4.2. Çalışma Gruplarının Klinik Özellikleri

Tablo 4.3. Farklı Periodontitis Evrelerine Ait Demografik Veriler ve Tüm Ağız Klinik Periodontal Parametreler

Tablo 4.4. Örneklenen Dişlere Ait Ortalama Klinik Periodontal Parametreler

Tablo 4.5. DOS Hacim Bulgularının Gruplar Arası Karşılaştırılması

Tablo 4.6. DOS Total Miktar Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Tablo 4.7. DOS Konsantrasyon Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Tablo 4.8. Tükürük Konsantrasyon Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Tablo 4.9. Serum Konsantrasyon Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Tablo 4.10. Periodontitis Evrelerine Göre DOS Total Miktar ve Konsantrasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

Tablo 4.11. Periodontitis Evrelerine Göre Tükürük ve Serum Konsantrasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

Tablo 4.12. Klinik Verilerin Kendi Aralarındaki Spearman Korelasyon Bulguları

Tablo 4.13. Çalışma Geneli DOS Alınan Dişler ve Tüm Ağız Klinik Korelasyonlar

Tablo 4.14. Çalışma Geneli DOS Alınan Dişlere Ait Klinik Parametrelerin Birbirleri ile Korelasyonları

Tablo 4.15. Biyokimyasal Verilerin Klinik Parametreler ile Arasındaki Spearman Korelasyon Bulguları

Tablo 4.16. Çalışma Geneli Biyokimyasal Verilerin Birbirleri ile Korelasyonları

1.GİRİŞ

Periodontitis dişleri destekleyen alveoler kemik, periodontal ligament, sement ve diş eti dokularında yıkımla seyreden; multifaktöriyel ve enfeksiyöz karakterli bir hastalıktır (1).

Gingivitis ve periodontitis olmak üzere ikiye ayrılan periodontal hastalıklar; subgingival disbiyotik biyofilme verilen enflamatuvar konak cevabı ile genetik ve çevresel faktörler arasındaki dinamik etkileşimlerin doku homeostazisini bozması sonucunda gelişir (2). Gingivitis; gingival marjinin apikalinde kolonize olan plak biyofilmi ile konak yanıtı arasındaki spesifik olmayan etkileşimler sonucu gelişen, enflamatuvar bir durumdur (2). Bu inflamasyon; mukogingival hattın ötesine ilerlemeyen, biyofilmin uzaklaştırılmasıyla kendiliğinden iyileşen, geri dönüşümlü bir yapıya sahiptir (3). Periodontal dokularda başlayan enflamatuvar yanıtın kontrol altına alınamadığı durumlarda ataçman ve alveoler kemik kaybı meydana gelerek periodontitis başlar. Genel olarak kabul edilen görüş, tedavi edilmeden bırakılan gingivitis lezyonlarının duyarlı bireylerde periodontitise ilerleyebileceği yönündedir (1, 4, 5). Periodontitis; dişlerde artmış mobilité ve diş kaybı ile sonuçlanabilir (6).

Bireyler arasında periodontitise karşı duyarlılık açısından gözlenen fark, her bireyin periodontal patojenlere vermiş olduğu yanıtın, kişiye özgü olması ile açıklanabilir (7). Bu yönüyle periodontitis etyopatogenezinin anlaşılabilmesi için konağa ait immün yanıtların araştırılması günümüzde pek çok çalışmanın temelini oluşturmaktadır (8, 9).

MMP'ler sitokin ilişkili, diş eti epitel hücrelerinin uyarılmasıyla aktive olan, nötrofil kaynaklı, ekstraselüler matriksin bozulmasında görevli çinko bağımlı proteazlardır (10). MMP-9 periodontitisten etkilenmiş diş eti dokularında güçlü şekilde aktive olan jelatinazlardan biridir (10). MMP-9; nötrofil kemokini IL-8'in (CXCL-8) kemotaktik aktivitesini güçlendirerek immün yanıtta doğrudan rol oynar.

Sitokinler hücreler arası haberleşmeye aracılık eden çözünebilen proteinlerdir (11). Hücre fonksiyonları üzerindeki farklı etkileri sebebiyle, belirli bir patojene karşı oluşturulan direnç veya duyarlılığı ve dolayısıyla immün yanıtın seyrini belirlerler (12). Lökositler ve diğer hücreler arası iletişimde rol oynayarak inflamasyonu düzenlerler. Esas olarak makrofajlar ve T hücrelerinden üretilirler. Fonksiyonel

özelliklerine göre; inflamasyonu teşvik eden proenflamatuvar sitokinler ve proenflamatuvar sitokinlerin aktivitelerini baskılayan antienflamatuvar sitokinler olarak sınıflandırılırlar (11, 13). IL-17; Thelper(h)-17 hücrelerden uyarılan bir sitokindir. IL-17'nin oral hastalıklardaki rolü karmaşıktır; birçok proenflamatuvar sitokin üretimini uyarır ve periodontitisten etkilenmiş mukozal dokularda aşırı üretimi bildirilmiştir (14). Yanı sıra IL-17 enflamatuvar uyarana yanıt olarak nötrofillerin damar dışı göçünü destekleyerek mukozal doku homeostazisinde de önemli rol oynar (14, 15). IL-17 aynı zamanda MMP'leri uyararak bağ doku yıkımını ve osteoklastogenezisi teşvik eder (15).

IL-36γ; IL-1β ailesine üye proenflamatuvar bir sitokindir. IL-36γ'nın, dendritik hücreler ve makrofajlar tarafından eksprese edilen nötrofil ve Th-17 kemokinlerini uyardığı gösterilmiştir (16). Ayrıca IL-36γ'nın disbiyoziste anahtar rol oynayan *Porphyromonas (P) gingivalis*'in lipopolisakkarit (LPS)'ine karşı IL-17 aracılığıyla oral epitel hücrelerinden eksprese edilerek immün yanıtta rol oynadığı da bildirilmiştir (16). Ayrıca IL-36γ stimülasyonu ile epitel hücrelerinde MMP-9 ekspresyonunun arttığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir (17).

IL-38; IL-36γ'nın reseptör antagonisti, IL-1β ailesine üye sitokinlerden biridir (18). IL-36'nın reseptör antagonisti (IL-36Ra) gibi davranarak Th-17 hücrelere etki ettiği ve bu etkiler sonucu, nötrofil kemokini IL-8'i inhibe ederek inflamasyonu baskılamada rol oynadığı bilinmesine rağmen;(18) IL-38'in romotoid artrit gibi enflamatuvar hastalıkların patogeneğinde yer aldığı, sinoviyal sıvıda IL-36 reseptörü ve öncü sitokinleri ile korele olarak ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (19-21).

Günümüzde periodontal hastalıkların hastalık aktivitesinin belirlenmesi, erken dönem teşhisi, prognozunun öngörülebilmesi ve tedavi başarısının değerlendirilmesi giderek değer kazanmaktadır. Bu doğrultuda sitokinler ve proteazlar gibi biyolojik belirteçlerin dişeti oluğu sıvısı, tükürük ve serum gibi vücut sıvılarında analiz edilmesi günümüzde araştırmacılar tarafından sıklıkla başvurulmuş, hastalığın lokal ve sistemik olarak değerlendirmesine olanak sağlayan önemli gelişmelerden biridir (22, 23). Mevcut bilgilerimiz dahilinde bahsedilen proteaz ve sitokinlerin bazılarının gingival dokularda, bazılarının ise periodontitisle ortak enflamatuvar süreçlere sahip hastalıklarda rol oynadığı ve birbirleriyle ilişkili olduğu görülmüştür. Ancak bu

proteaz ve sitokinlerin sağlıklı ve hastalıklı bireylerin DOS, serum ve tükürük sıvılarında birlikte incelendiği bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır.

Bu bilgiler doğrultusunda ilgili çalışmada; periodontal olarak sağlıklı, gingivitis ve periodontitisli bireylerden alınan DOS, tükürük ve serum örneklerindeki MMP-9, IL-17, IL-36γ ve IL-38 düzeylerinin değerlendirilmesi, bahsedilen proteaz ve sitokinlerin kendi aralarındaki ve klinik parametreler ile aralarındaki olası korelasyonun incelenmesi amaçlandı.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Sağlık

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün yaptığı tanımlamaya göre sağlık durumu, yalnızca hastalık ve sakatlığın olmaması değil; tam bir fiziksel, zihinsel ve sosyal refah içinde olma halidir (24). Buna göre periodontal açıdan sağlıklı bir birey; fonksiyonlarını normal olarak yerine getirebilmeli, daha önceden geçirilmiş olan hastalıkların yarattığı hiçbir zorluğu yaşamamalı ve periodonsiyumda klinik olarak saptanabilir bir inflamasyona sahip olmamalıdır (25).

Bu genel sağlık tanımı çerçevesinde; klinik diş eti sağlığı ataçman ve kemik kaybı olmayan sağlam bir periodonsiyumda bulunabileceği gibi periodontitise bağlı veya periodontitis dışı nedenlerle azalmış ve tedavi edilmiş stabil bir periodonsiyumda da bulunabilir (26). Klinik diş eti sağlığı periodonsiyumun yapısal bütünlüğüne göre 2017 Dünya Çalıştayı'nda 2 başlıkta incelenmiştir: (26)

1. Bozulmamış periodonsiyumda görülen klinik diş eti sağlığı
2. Azalmış periodonsiyumda var olan klinik diş eti sağlığı
 - a. Stabil periodontitis hastasında var olan diş eti sağlığı
 - b. Periodontitis dışı durumlara bağlı olarak (kron boyu uzatma, çekilme) azalmış periodonsiyumda var olan diş eti sağlığı

Bozulmamış periodonsiyumda klinik periodontal sağlık; şişlik/ödem, kızarıklık/eritem, pü ve ataçman kaybı olmamasıyla beraber %10> sondlamada kanama, ve 3mm≥ sondlanabilen cep derinliği olması şeklinde tanımlanmıştır (25). Radyografik olarak bakıldığında ise devamlılığını koruyan bir lamina dura varlığı ve furkasyon alanında kemik kaybının olmaması beklenir (25). Ayrıca alveoler kret tepesi mine sement sınırının yaklaşık olarak 1-3 mm apikalinde konumlanır (26-28). Azalmış periodonsiyumda var olan klinik periodontal sağlık ise; azalmış alveoler kemik ve ataçman seviyeleri varlığında %10> sondlamada kanama, 3 mm≥ cep derinliği olması bunun yanında ödem, eritem ve cep formasyonunun olmaması ile karakterizedir (25).

Bununla birlikte klinik diş eti sağlığını belirleyen parametrelerin ölçümünde standart aletlerin (sondaların) kullanılamaması ve teknik sınırlamalar nedeniyle, periodontal olarak sağlıklı olan bir hasta, inflamasyon belirtileri gösteren bir veya iki bölge

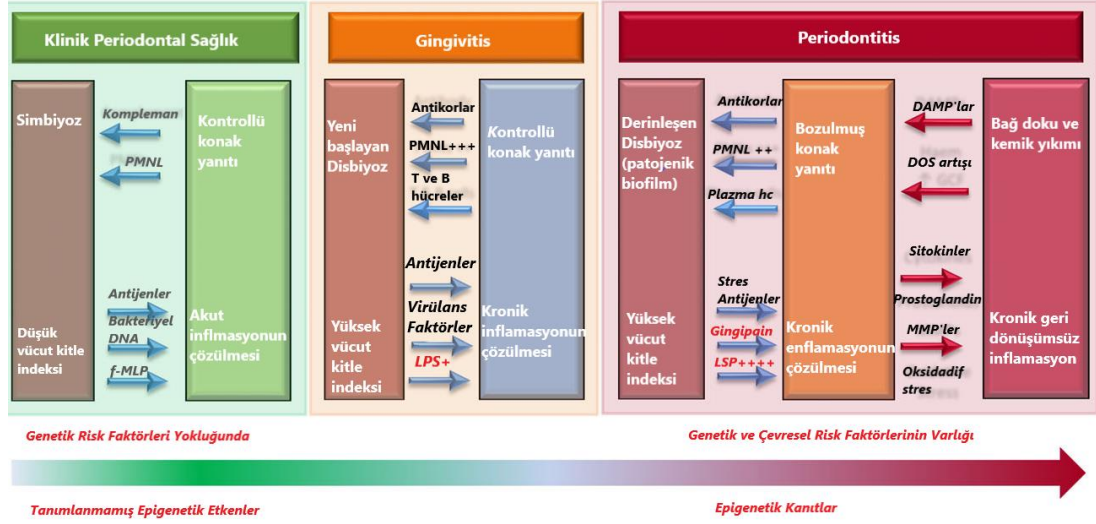
sergileyebilir. Ayrıca bazı bölgelerde lokalize, hafif ve gecikmiş kanama bulunabilir (26). Öte yandan klinik sağlıkta; histolojik olarak saptanabilen biyolojik bir nötrofil infiltrasyonu varlığına karşılık stabil, dengeli bir konak yanıtı olup, gözlenebilen inflamasyon yoktur (3, 26).

Ek olarak, periodontal sağlığın kurulabilmesi ve idame ettirilebilmesi plak birikimine katkı sağlayan hazırlayıcı faktörler (restorasyonlar, kök anatomisi, diş pozisyonu vb) ve konağın mikrobiyal plağa vereceği yanıtı değiştiren faktörlerden (genetik, ilaçlar, sigara vb.) etkilenir (29, 30).

2.2. Plağa Bağlı Gingivitis

Dental plağa (biyofilm) bağlı gelişen gingivitis; serbest diş eti kenarı ve diş eti oluşunda biriken bakteriyel plağa karşı diş eti dokularında gözlenen enflamatuvar yanıtıdır (31). Epidemiyolojik veriler, dentisyonun devamlılığının korunduğu popülasyonlarda plağa bağlı gingivitisin her yaşta yaygın olduğunu göstermektedir ve bu hastalık periodontal hastalığın en sık görülen formu olarak kabul edilir (32-35). Plağa bağlı gingivitis doğrudan diş kaybına sebep olmaz ancak periodontitis gelişimi için başlıca risk faktörü olarak kabul edilir (4). Bu sebeple gingivitisin kontrol edilmesi periodontitis için birincil koruyucu yöntemdir (36).

Plağa bağlı gingivitisin başlanmasında dişler üzerinde biriken dental plağın bozulmadan veya uzaklaştırılmadan, günler veya haftalar boyunca birikimi rol oynar; mikrobiyal biyofilm ile konak immün-enflamatuvar yanıtı arasındaki simbiyotik ilişkinin biyofilm lehine kayması ve yeni bir disbiyoz gelişimi gingival inflamasyon gelişimine yol açar (32). Bununla birlikte diş eti dokularında biyofilm miktarı en düşük seviyelerde olduğunda dahi fizyolojik bir immün hücre infiltratı bulunur (25). Ayrıca hormonal bozukluklar, hematolojik durumlar, diyet ve ilaçlar dahil olmak üzere çeşitli sistemik faktörler, konak immün-enflamatuvar yanıtını değiştirebilir (37, 38).



Şekil 2.1. Periodontal sağlıktan periodontal hastalığa kayma (40)(40)

Dental plak biyofilmi ilişkili gingivitisler son güncellemeyle birlikte periodonsiyumun durumuna göre 3 çeşit olarak tanımlanmıştır: (26)

1. Bozulmamış periodonsiyumda gelişen gingivitis,
2. Periodontitis kaynaklı olmayan azalmış periodonsiyumda gelişen gingivitis,
3. Başarılı bir şekilde tedavi edilebilmiş periodontitis sonrası azalan periodonsiyumda gelişen gingivitis.

Periodontitis öyküsü olan azalmış periodonsiyumda hastalığın tekrarlama olasılığı diğer ikisinden daha yüksektir. Bu yüzden hastaların sürekli olarak bireysel risk değerlendirmesinin yapılması ideal hasta yönetimine katkı sağlar (32). Ayrıca yapılan çalışmalarda ataçman kaybının meydana geldiği bölgelerde zamanla daha fazla diş eti inflamasyonu gözlenirken periodontal ataçmanın korunduğu bölgelerde daha az diş eti inflamasyonu izlenmiştir (26, 41, 42). Ataçman kaybı ile diş eti inflamasyonu arasındaki korelasyon; gingivitisin, hazırlayıcı ve değiştirici faktörler varlığında periodontitis riskini artırdığını gösterebilir ve akabinde gingivitis tedavisinin periodontitis için birincil koruyucu yöntem olduğu kanısına varılabilir (4, 36).

Plağa bağlı gingivitisin teşhisinde sondlamada kanama bulgusu yaygın olarak kullanılan önemli bir kriterdir (43). Yapılan çalışmalar sondlamada kanamanın gingivitisin görsel belirtilerinden daha erken tespit edilen bir bulgu olduğunu göstermektedir (25). 0,25 Newton (N) kuvvet ile sondlama sonrası kanama periodontal hastalık varlığı için en güçlü negatif prediktördür (43). Sondlamada kanama yüzdesi

(SK%), ataçman ve kemik kaybı bulunmayan bir olguda; $\geq 10\%$ ise gingivitis varlığından söz edilebilir. Plağa bağlı gingivitis kanama yüzdesi $10-30\%$ arasında ise lokalize; $>30\%$ generalize gingivitis olmak üzere yaygınlık durumuna göre 2'ye ayrılır (26, 44). Ödem/şişlik, eritem ve pü akışı ile $3\text{ mm} \geq$ sondlamada cep derinliği varlığı gingivitisin diğer gözlenebilir ve ölçümlenebilir kriterleridir. Hem tedavi edilmiş periodontitiste hem periodontitis dışı durumlara bağlı azalmış periodonsiyumda, hem de normal periodonsiyumda görülen gingivitisler için aynı kriterler geçerlidir (26). Ayrıca diş eti oluğu sıvısının hacim artışı en erken gözlenen klinik bulgulardan olmak üzere; bu sıvının hacmi etkilenen bölgedeki inflamasyon düzeyini değerlendirmek için klinik çalışmalarda oldukça geniş çapta incelenmiştir (4, 44). Histopatolojik olarak görülen değişiklikler arasında; epitelyal retepeglerin diş eti bağ dokusuna uzaması, birleşim epiteline bitişik kan damarlarının vaskülit, kollajen lif demetindeki kollajen tiplerinde değişiklikler, fibroblastların sitopatolojik değişiklikleri ve ilerleyici bir immün-enflamatuvar hücre infiltrasyonu yer almaktadır (45).

2.3.Periodontitis

Periodontitis; kronik, multifaktöriyel enflamatuvar bir hastalıktır. Disbiyotik plak biyofilmleri ile ilişkilidir ve diş destek yapısının ilerleyici yıkımı ile karakterize edilir (6, 46).

Periodontitis; yüksek prevalansı nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur (47). Diş ve buna bağlı olarak fonksiyon kaybına yol açabilir, çiğneme işlevini ve estetiği olumsuz yönde etkileyebilir, toplumsal eşitsizlik kaynağı olabilir ve bireyin yaşam kalitesini düşürebilir. Başlıca özellikleri klinik ataçman kaybı (20)'na bağlı ortaya çıkan destekleyici periodontal doku kaybı ile radyografik olarak doğrulanan alveolar kemik yıkımı, periodontal cep oluşumu ve diş eti kanamasıdır (6).

Klinik olarak periodontitis tanısının koyulabilmesi için; birbirine komşu olmayan en az 2 dişin interproksimalinde KAK olması ya da en az 2 dişin oral veya vestibül yüzeyinde $\geq 3\text{ mm}$ KAK ile birlikte $\geq 3\text{ mm}$ sondlanabilir cep derinliği (SCD) olması gerekmektedir (6). Ancak; travma kökenli diş eti çekilmeleri, endodontik lezyonlar, vertikal kök kırıkları, 3. molar dişlerin çekimi ya da devrilmesine bağlı olarak 2. molarların distalinde oluşan klinik ataçman kaybı ve dişlerin servikal bölgelerine uzanan çürüklerin sebebiyet verdiği ataçman kayıpları periodontitis tanı kriterlerine dahil edilmemektedir (6).

2017 Dünya Çalıştayı'nda önceden “kronik” veya “agresif” olarak tanınan periodontitis formları artık “periodontitis” olarak tek bir kategori altında gruplandırılmış, çok boyutlu bir evreleme(staging) ve derecelendirme(grading) sistemiyle karakterize yeni bir sınıflama şeması oluşturulmuştur (6).

Yeni sınıflamada evreleme hastalığın şiddetine, kapsam/yayılımına ve hastalık yönetiminin karmaşıklığına dayandırılmıştır. Evrelendirmede hastalığın şiddeti; klinik ataşman kaybının derecesi, radyografik kemik kaybının yüzdesi ve kaybedilen diş sayısı ile ilişkilendirilir; evre I, evre II, evre III ve evre IV olarak 4 seviyede incelenmiştir (48).

Evre I Periodontitis: Gingivitis ile periodontitis arasındaki sınırdır ve ataşman kaybının erken aşamalarını temsil eder. Bu hastalarda gingivitisin ve biyofilmdeki disbiyozun devamlı olmasına yanıt olarak periodontitis gelişmiştir. En fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı 1-2 mm'dir. Radyografik muayenede ise alveoler kemik kaybı koronal üçlüde %15'ten azdır ve genellikle horizontal kayıp gözlenir. Maksimum sondlanan cep derinliği 4 mm veya daha azdır ve periodontitise bağlı diş kaybı görülmez.

Evre II Periodontitis: diş destek dokularında karakteristik doku hasarının görüldüğü evredir. En fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı 3-4 mm'dir. Radyografik muayenede, alveolar kemik kaybı koronal üçlüde %15-33 arasındadır ve çoğunlukla horizontal kayıp gözlenir. Maksimum sondlanan cep derinliği 5 mm veya daha azdır ve periodontitise bağlı diş kaybı görülmez.

Evre III Periodontitis: Bu evrede epitelyal ataşmanda ciddi hasarlar mevcuttur ve tedavi edilmediği takdirde diş kayıpları görülebilir. En fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı 5 mm'den daha fazladır ve radyografik incelemede kökün ortasına veya apikal üçlüsüne kadar uzanan kemik kayıpları görülür. 4 veya daha az sayıda dişte periodontitis kaynaklı diş kaybı görülebilir. Maksimum sondlanan cep derinliği 6 mm veya daha fazladır. Vertikal kemik kaybı 3 mm veya daha fazladır ve Sınıf II veya II furkasyon tutulumu mevcuttur. Orta seviyede kret defektleri bulunabilir. Diş kaybı olmasına rağmen çiğneme fonksiyonu korunmuştur.

Evre IV Periodontitis: Evre 4 periodontitis, periodontal destek dokularda ciddi hasara ve diş kaybına neden olabilir. Bu durum, çiğneme fonksiyonunun kaybına yol açabilir. En fazla kayıp olan alandaki interdental klinik ataşman kaybı 5 mm'den

daha fazladır ve radyografik incelemede kökün orta veya apikal kısmına uzanan kemik kayıpları görülür. Evre 3 periodontitise ek olarak çiğneme disfonksiyonu bulunur ve dişlerde sınıf II veya daha fazla mobilité görülür. 5 veya daha fazla dişte periodontitis kaynaklı diş kaybı görülebilir. Kret defektleri ve dişlerde malpozisyonlar bulunabilir. Ağızda kalan diş sayısı 20'den azdır.

Periodontitisin kapsam ve yayılımı ise her evre için etkilenen diş sayısının dentisyona oranı dikkate alınarak lokalize (<%30) generalize (≥30) ya da molar-keser yayımlı olarak ifade edilir (48). Periodontal hastalık evrelendirilmesi **Tablo 2.2.**'de verilmiştir.

Tablo 2.2.Periodontal Hastalık Evrelendirmesi

Periodontitis Evreleri		Evre I Başlangıç Periodontitis	Evre II Orta Derece Şiddetli Periodontitis	Evre III Şiddetli Periodontitis	Evre IV İleri Derece 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 Orta ve/veya Apikal Üçlüsüne Uzanan	Kökün Orta ve/veya Apikal Üçlüsüne Uzanan
	Diş Kaybı	Periodontitise Bağlı Diş Kaybı Yoktur.		Periodontal Kaynaklı Diş Kaybı ≤ 4 Diş	Periodontal Kaynaklı Diş Kaybı ≥5
Tedavinin Karmaşıklığı	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 Kret Defektleri	Evre III'e Ek Olarak; Çiğneme Disfonksiyonu Dişlerde Sekonder Oklüzal Travmaya Bağlı Sınıf II veya Daha Fazla Mobilité. Kret Defektleri, Dişlerde Malpozisyonlar Kalan Diş Sayısı <20
Yaygınlık	Evrelemeye Tanımlayıcı Olarak	Her Evre İçin Lokalize (Etkilenen Alanlar %30'dan Az Olduğunda), Generalize ve Molar-Keser Tutulumu Olarak Belirtilir.			

Derecelendirme ise periodontitis ilerleme hızının geçmişe yönelik bir analizine izin verir. Ayrıca derecelendirme ile hastalığın daha fazla ilerleme riskinin değerlendirilmesi, hastalığın/tedavisinin hastanın genel sağlığını olumsuz etkileyebilme riskinin analizi gibi periodontitisin biyolojik özellikleri hakkında ek bilgi sağlanır (48). Furkasyon tutulumu, vertikal kemik defektlerinin varlığı/şiddeti ve diş mobilitesi hastalığı karmaşıklaştıran faktörler olarak derecelendirmede rol oynayabilir (48). Ayrıca periodontitisin derecelendirilmesinde hastanın sigara kullanımı, kötü metabolik kontrollü/diyabetik olması da dikkate alınarak düşük risk (derece A), orta risk (derece B), yüksek risk (derece C) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır (48). Periodontal hastalık derecelendirilmesi **Tablo 2.3.**'de verilmiştir.

Tablo 2.3.Periodontal Hastalık Derecelendirmesi

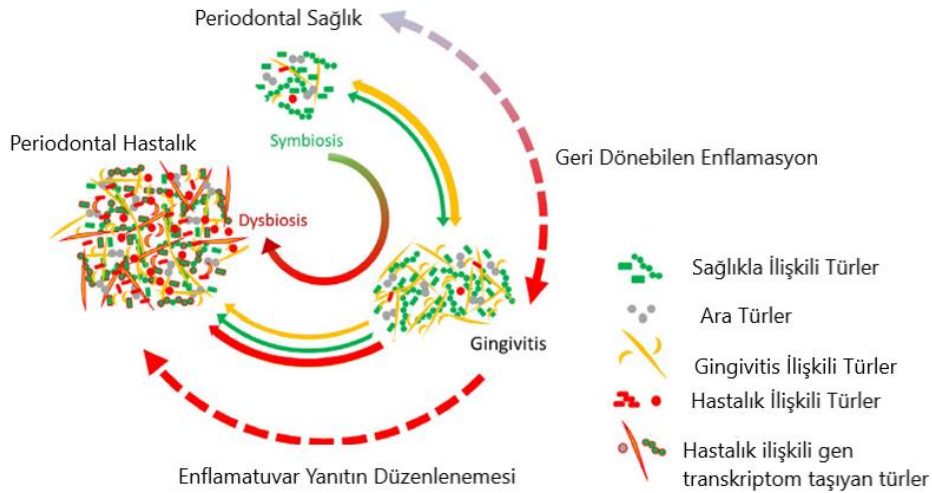
Periodontitis Derecesi			Derece A Yavaş İlerleme Oranı	Derece B Orta İlerleme Oranı	Derece C Hızlı İlerleme Oranı
Primer Kriter	İlerlemenin Direk Kanıtları	Radyografik Kemik Kaybı veya Klinik Ataşman Kaybı	5 yıl boyunca radyografik kemik kaybı yok	5 yıl boyunca radyografik kemik kaybı <2 mm	5 yıl boyunca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

2.4.Periodontal Hastalıkların Etyopatogenezi

Periodontal hastalıklar; diş eti oluğu içerisinde yerleşik olan subgingival mikrobiyal dental plak ile konağın immün yanıtları arasındaki denge durumunun mikroorganizma lehine değişerek doku homeostazisinin bozulması sonucunda gelişir (49, 50).

Biyofilmde yer alan türler arasında bulunan simbiyotik ilişki, genetik ve kazanılmış risk faktörlerinin (sigara, stres, yaş, diyet, sistemik hastalık) etkisiyle bozulursa kommensal türler patojen hale gelerek disbiyozisin gelişmesine sebep olur (14, 51-53). Böylece birey periodontal hastalık için duyarlı hale gelir.

Subgingival mikrobiyal dental plakta günümüze dek 500 farklı tür tespit edilmiştir ancak yapılan kültür çalışmalarına bakıldığında; periodontal sağlık, gingivitis ve periodontitiste subgingival biyofilmin bakteriyel içeriğinin değiştiği rapor edilmiştir (54, 55).

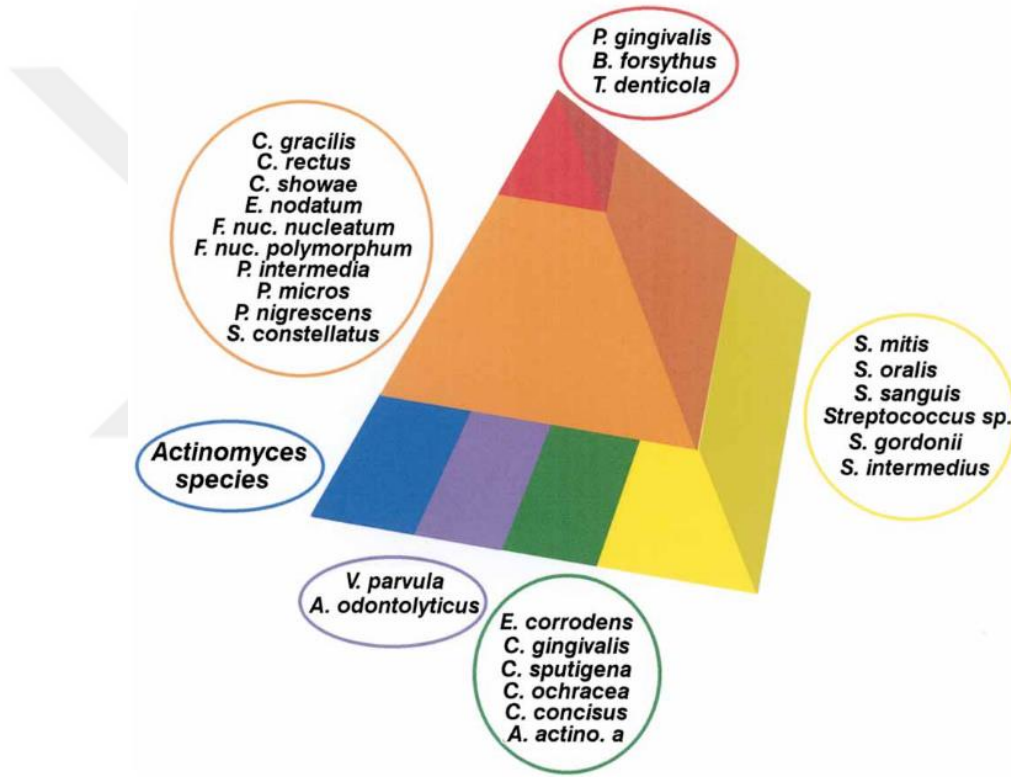


Şekil 2.2.Periodontal Dokularda Disbiyozis (56)

Periodontal sağlıkla ilişkili subgingival türler arasında, gram(+) koklar ve çubuklar sayısal olarak baskındır (56). *Actinomyces(A) naeslundii* sağlıkta en sık bulunan subgingival tür olarak tanımlanmıştır. *A.meyeri* ve *A.odontolyticus*, *S. sangius* *S.oralis*, *S.intermedius*, *S.gordonii*, *Peptostreptococcus micros*, *Gemella morbillorum* ve gram(-) *Veillonella (V) parvula*, *V.atipica*, *Capnocytophaga ochracea* ve *C.gingivalis* periodontal sağlıkla ilişkili diğer türlerdir. Mikrobiyal dental plağın olgunlaşması sırasında pelikül yüzeyine ilk tutunan mikroorganizmalar başlangıç kolonizasyonunu oluşturur. *Actinomyces* türleri ile beraber sarı kompleks (*streptococcus* türleri), yeşil

kompleks (*Capnocytophaga* türleri) ve mor kompleks (*V. parvula*, *A. Odontolyticus*) mikroorganizmalar erken kolonizörlerdir (57).

Sağlıklı plakta en sık bulunan ikinci tür ise *Fusobacterium nucleatum* gibi bir gram(-) filamentli bakteridir (54). *F.nucleatum*; *P.intermedia*, *P.nigrescence*, *P.micros*, *C.rectus* ve *E.nodatum* ile birlikte turuncu kompleks mikroorganizmaları oluşturur (58). Pelikül yüzeyine doğrudan tutunamayan kırmızı kompleks bakteriler (*Tanneralla Forsythia*, *Treponema Denticola*, ve *Phorphyromonos Gingivalis*) ile erken kolonizörler arasında köprü görevi görerek biyofilme katılmalarını sağlar.



Şekil 2.3: Subgingival Mikrobiyal Kompleksler (57)

Konak ile mikroorganizmalar arasında bulunan dengenin kırmızı kompleks mikroorganizmaların lehine değişmesi ile şiddetli periodontal hastalıkların yakın ilişkili olduğu “Keystone Patojen Hipotezi” ile açıklanmıştır (59, 60).

Periodontitiste disbiyosiz ile inflamasyonun kontrolsüzce tetiklenmesi sonucu bağ doku ve kollajen peptitlerin yıkımı söz konusudur. Artan doku parçalanma ürünleri, periodontopatojen (inflamofilik); *Tanneralla Forsythia*, *Treponema Denticola*, ve *Provetella İntermedia* türleri için besin sağlayarak disbiyozisin daha da şiddetlenmesine neden olur (61). Disbiyozisten sorumlu başlıca mikroorganizma

“Keystone patojen” olarak adlandırılan *Phorphyromonos Gingivalis*’tir (62, 63). *P.gingivalis*; sahip olduğu virölans faktörleri *Lys-Gingipain* ve *Arg-gingipain* ile nötrofil kemokini IL-8’i parçalayarak nötrofil kemotaksisini bozar; yine gingipain aracılığıyla kompleman proteini anafletoksin C5a’yı enzimatik yoldan artırarak anaflaksiyi güçlendirir (61). Ayrıca *P.gingivalis* lipopolisakkaritinin Lipit-A ekini değiştirerek Toll-like Reseptör (TLR) 4 aktivitesini engelleme yoluyla immün yanıtı zayıflatır (49).

TLR’ler; antijen sunan immün sistem hücreleri, endotel ve epitel hücreleri üzerinde bulunarak patojen ilişkili moleküler modelleri tanıyan transmembran glikoproteinlerdir (64). Epitel hücreleri gingival fibroblastlar, nötrofil, monosit/makrofaj, dentritik hücreler, B lenfositler spesifik T hücreler ve osteoblastlarda bulunurlar (64). *P. gingivalis* ek olarak kazanılmış immün yanıtın sorumlu Th1 etkinliğini azaltarak Th17 aracılı inflamasyonunun önünü açar ve yıkıcı periodontal hastalığın ilerlemesine neden olur (65, 66). Yapılan çalışmalar *P. gingivalis*’in biyofilm içerisinde çok düşük sayılarda bile olsa kommensal mikrobiyatanın hem miktar hem de kompozisyonunda değişikliğe neden olarak kemik yıkımıyla seyreden periodontal hastalığa sebebiyet verdiğini göstermiştir (61, 63).

2.5 Periodontal Hastalık Patogenezi

Periodontal hastalıkları başlatan biyofilme karşı ilk defans elamanı epiteldir (67). Epitel; fiziksel bir bariyer olmasının yanında immün sistemi destekleyen koruyucu fonksiyonlara sahiptir; bakteri ve bakteri ürünlerini tanıyan reseptörlere sahip olması, langerhans hücreleri ile diğer immün hücrelere antijen sunarak immün sistemi yönetmesi, intraepitelyal yerleşimli özelleşmiş gama(γ), sigma(δ) T hücreleri aracılığıyla antijen sunumu olmadan antijenleri tanıyabilmesi epitelin koruyucu fonksiyonlarıdır (67). Epitel hücreleri patojen ilişkili moleküler modeller “pathogen associated molecular pattern” (PAMP) olarak adlandırılan bakteriyel ürünleri sahip oldukları reseptörleri ile tanır. Bahsedilen reseptörler, PAMP’ları tanıyarak hızla yanıt verilmesini sağlayan; model tanıyan reseptörler “pattern recognizing receptors” (PRR)’dir (68). Doğal immün yanıtta rol oynayan en önemli PRR, TLR’dir. Epitelde TLR-2, 3, 4, 5, 6 ve 9 bulunur (64). TLR-2 ile bakteriyel lipoprotein, peptidoglikan(PG) ve lipoteikoik asitler (69) tanınırken; TLR-4 ile lipopolisakkaritler (LPS) tanınır (64). Bu tanıma ile ortaya çıkan sinyal; nükleer faktör-kappa β (NF- $\kappa\beta$) transkripsiyon faktörünü aktive ederek proenflamatuvar sitokin ve antimikrobiyal ürünlerin serbest bırakılmasını uyarır (70). Eğer TLR’ler uyarılmaya devam ederse

proenflamatuvar mediyatörlerin aşırı üretimi sonunda doku yıkımı meydana gelir. Aynı zamanda birleşim epitelinin geçirgen yapısı sayesinde ekstraselüler ortama nötrofil göçünün sağlanması kritiktir (67).

Başlangıç Lezyonu

Biyofilm oluşumu sonrası bakteri ve ürünlerinin birleşim epiteliyle temasına karşılık verilen ilk konak yanıtı; sulkusa polimorfonükleer lökosit (PMNL) göçüdür (40). Epitelyal temas sonrası sentezlenen enflamatuvar mediyatörler, gram(+) streptokokların PG ve LTA'ları, ve gram(-) bakterilerin LPS'leri kompleman sistemde aktivasyon başlatır. Böylece birleşim epitelinin hemen altındaki kapillerlerin çevresindeki mast hücreleri indüklenir. Birleşim epitelinden bağ dokuya uzanan nöronlar (C lifler) ve nöropeptitler lokal kan damarlarının etrafındaki mast hücrelerini kompleman reseptörleri aracılığı ile uyarır (71). Kompleman sistemden sentezlenen C3a ve C5a anafatoksinleri, mast hücrelerinden vazoaaktif aminlerin (histamin, bradikinin) sekresyonunu sağlar (40, 72). Sonrasında histamin, bradikinin, prostoglandin, lökotrien gibi vazoaaktif ürünlerin artışı ile ilk önce geçici bir (VK) hemen sonra vazodilatasyon (VD) ve vasküler permeabilitede artış gözlenir (11). Böylece inflamasyonun vasküler fazı başlar. Kan akımının yavaşlamasıyla damar lümeni içerisinde hızla akan nötrofillerin damar endoteline tutunabilmesi kolaylaşır (40). Mast ve epitel hücrelerinden salınmaya devam eden IL-1 β , "tumor nekrosis factor-alfa" (TNF- α) gibi proenflamatuvar sitokinler ve bakteri kaynaklı uyaranlar (LPS) ile dış eti kapillerlerinin endotel hücrelerinden çeşitli adezyon molekülleri eksprese edilir (73). Bu moleküller E-selektin ya da endotelyal lökosit adezyon molekülü-1 "*Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule-1*" (ELAM-1), platelet (P)-selektin ve interselüler adezyon molekülü-1 "*Intercellular Adhesion Molecule-1*" (ICAM-1)'dir (73). Nötrofiller hücre yüzeylerinde bulunan glikoprotein yapıları ile endotel üzerinde açığa çıkan selektinlere zayıf bir bağlanma gerçekleştirir. Bu temas nötrofillerin hızını yavaşlatarak damar içinde "rolling"(yuvarlanma hareketi) yapmasını sağlar. Daha sonra endotel üzerinden salınan IL-8 aracılığıyla nötrofillerin integrin ligandlarıyla ICAM-1 tutunması teşvik edilir.

İntegrinler glikoprotein yapıları, heterodimerik transmembran proteinleridir. α ve β halkası taşırlar. $\beta 2$ halkası olan integrinler lökosit integrinleridirler. En güçlü

bağlanma nötrofilin lökositik integrini $\alpha 1\beta 2$ halkalı lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1 “*Lymphocyte Function-Associated Antigen-1* (LFA-1) ile ICAM-1 arasında olur. Böylece sıkı adezyon gerçekleşir. Sonrasında “*Platelet-Endothelial Cellular Adhesion molecule-1*” (PECAM-1) bağlanması ile nötrofilin endotelden bağ dokuya çıkışı yani *transendotelial* göç tamamlanır. Artık bazal membran ile endotel arasında olan nötrofil; IL-8, C5a, LTB4, PAF, f-MLP ve LPS gibi kemotaktik ajanlar ile dental plağa doğru marjinasyon gerçekleştirir (74).

Lökositlerin bağ dokudan diş eti oluşuna çıkışında keratinositlerin rolü kritiktir (75). Keratinositlerin ürettiği IL-1 ve IL-8 sitokinleri ve özellikle birleşim epitel hücrelerinden sentezlenen epitelial ICAM-1 ve E-selektin gibi adezyon moleküllerinin sekresyonu epitel hücreleri arası desmozomal bağlantılarının zayıflayarak hücrelerarası boşlukların genişlemesine neden olur (67, 73, 75). Böylece birleşim epitelinin geçirgenliği artar ve lökositlerin sulkusa çıkışı sağlanır. Birleşim epitelinde gözlenen bu geçirgenlik artışı yalnızca kendisine özgüdür (67, 76). IL-8 ve keratinositler üzerinde sentezlenen ICAM-1 (CD54) ekspresyonunun mikrobiyal atağa karşı PMNL göçünde önemli basamaklardan olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (75). Bu çalışmaların birinde *Tonetti ve ark*; IL-8 ekspresyonunun birleşim epitelinin yüzeyel tabakalarında en fazla görüldüğünü ve ICAM-1 pozitif hücrelerin bakteri atağının olduğu bölgelere doğru artış gösterdiğini ifade etmişlerdir (75). Nötrofilin sulkusa çıkışı beraberinde hücrel ve humoral serum komponentlerinin diş eti oluşu sıvısına taşınmasını sağlar. Bu olay meydana gelirken küçük miktarlarda kollajen ve diğer perivasküler ekstraselüler matriks elemanları hasara uğrar (77). Bu süreç klinik olarak sağlıklı diş etinde düşük dereceli olarak süregelmektedir ve başlangıç lezyon olarak tanımlanır.

Erken Lezyon

Plak birikimi birkaç gün daha sürerse başlangıç lezyonu erken lezyona dönüşür. Bu süre genellikle 4-7 gündür. Plak uzaklaştırılmadığı sürece bölgeye lökosit infiltrasyonu artar. Monosit/makrofaj mononükleer hücreler aktive olur. Bu evrede akut ve kronik olaylar birlikte gözlenir (77). Nötrofiller tarafından durdurulamayan ve birleşim epitelini geçerek bağ dokuya ulaşan bakteri antijenleri, doğrudan makrofajlarca fagosit edilir ya da antijen sunan dentritik hücreler ile lenfositlere sunulur. Hücrel immün yanıttan sorumlu T hücreleri, antijenleri tüm T lenfositlerin

yüzeyinde bulunan T hücre reseptörü “*T Cell Receptor*”(TCR) ile tanır. Dentritik hücreler antijenleri T lenfositlere büyük doku uygunluk kompleksi “*Major Histocompatibility Complex*” (MHC) molekülleri ile sunar (78).

MHC molekülleri peptid antijenlerin tanınmasını sağlayan membran proteinlerdir. Sınıf I-II-III olmak üzere 3 grup MHC molekülü vardır. Sınıf I ailesi İnsan lökosit antijen-A “human leukocyte antigen-A”(HLA-A), HLA-B ve HLA-C olmak üzere 6. kromozomun sınıf 1 gen bölgesinde aynı isimli gen lokuslarından sentezlenirler. Sınıf II MHC ailesi ise aynı kromozomda HLA-DR, HLA-DP, HLA-DG molekülleri olarak aynı isimli 3 gen lokusu tarafından kodlanırlar. Sınıf I MHC molekülleri $CD8^+$ T sitotoksik hücrelerine antijen sunarken, Sınıf II MHC molekülleri ile $CD4^+$ T yardımcı hücrelerine antijen sunulur. $CD8^+$ T lenfositler dentritik hücreler tarafından hücre sitozolünde işlenen peptid antijenleri tanırlarken; $CD4^+$ T lenfositler hücre dışından fagozom içine alınarak yıkılan antijenleri tanırlar. Bu durum $CD4^+$ ve $CD8^+$ T lenfositlerin kendilerine özgü antijenleri tanıdığını gösterir (79). Antijen ve eş uyarılara yanıt olarak T lenfositler farklı etkilere sahip sitokinler salgılar. T hücre alt gruplarının dengesi enfeksiyonun eliminasyonu için hangi tip kazanılmış immün yanıtın kullanılacağını belirler. Bu evrede $CD4^+$ T hücrelerin $CD8^+$ T hücrelere oranı 2:1’dir.

$CD4^+$ yardımcı T lenfositler immün yanıtın düzenlenmesinde görevlidir. Bu anlamda birçok proenflamatuvar, antienflamatuvar sitokin ve kemokin sentezi yapar. Lokal sitokin sentezinin türüne göre ise $CD4^+$ T lenfositler farklı efektör hücre alt gruplarına farklılaşırlar. Bu hücre alt grupları sırasıyla T1 (Th1) yardımcı, T2 (Th2) yardımcı, T17 (Th17) yardımcı hücreleri ve Tr (Treg) düzenleyici hücreleridir. Th1 hücre farklılaşması IL-12 sitokin sentezine maruziyet sonrası gerçekleşir. Bu hücreler interferon-gama(IFN- γ) sentezleyerek hem nötrofillerin hem de makrofajların fagositik aktivitelerini artırarak enfeksiyonu sınırlar. Th2 hücre alt grubu ise IL-4 ve IL-5 sitokinlerini üreterek bu sitokinlerle sırasıyla B hücrelerinde IgE antikor üretimini teşvik eder ve eozinofilik yanıtı destekler. Bu hücreler makrofaj aktivasyonunun zararlı etkilerini kontrol altına almaya çalışırken, humoral immüniteyi uyarır. Bu evrede lezyonun bir T hücre yanıtı olduğu bilinmektedir. Enflamatuvar hücre infiltratı bağ doku hacminin %15’ini oluşturur; infiltrat içerisinde nötrofil ve T hücreleri baskın iken çok az sayıda plazma hücresi görülür. Yapılan çalışmalarda 4. ve 8. günlerde infiltratın yüzde 65’inden fazlasını lenfositlerin oluşturduğu, PMNL’lerin

yüzde 10'dan az olduğu ve plazma hücrelerinin oranının yüzde 5'in altında kaldığı gösterilmiştir (80, 81). Ayrıca bu evrede fibroblastlar dejenere olur, kollajen yıkımı görülür, kollajen yıkımından arda kalan bölgelere doğru birleşim epiteli ve sulkular epitelin proliferasyonu gözlenir. Bu evrede gingivitis; klinik olarak ödem, hiperemi ve SK varlığıyla karakterizedir.

Yerleşik Lezyon

Biyofilme maruziyet 2-3 hafta daha devam ederse inflamasyonun hücresel immün yanıttan humoral immüniteye kaydığı gözlenir. Bu evre kronik gingivitisin periodontise kaydığı ve birleşim epitelinin apikale göçünün gözlemlendiği aşamadır. B lenfositler ve antikor üretimi yapan plazma hücrelerinin yoğunluğu tüm T lenfositlerinden daha fazladır. Baskın hücre tipi plazma hücreleridir ve lökosit infiltrasyonunun %10 ile 30'unu plazma hücreleri oluşturur. B hücrelerinin plazma hücrelerine dönüşmesi Th2 hücre aracılı olarak gerçekleşir. B hücrelerinin membranlarında bulunan immunoglobulin (Ig) reseptörler ile hücre dışı bakteriyel antijenler yakalanır ve hücre için alınır. Daha sonra hücre içinde işlenerek MHC II molekülleri ile CD4⁺ yardımcı T lenfositlere sunulur. Antijenik uyarı sonrası B hücre üzerine eksprese edilen B7 reseptörlerinin T hücreler üzerindeki CD28 ile bağlanması uyarılmadan sorumlu eş uyarınlardır. Daha sonra aktive olan T hücrelerinin yüzeyinde CD40 ligandı (CD40L) eksprese edilir. Salgıladıkları sitokinlerle aktifleşen B hücrelerinde bulunan CD40 reseptörü ile CD40L kenetlenir. Bu eşleşme sonrası B hücrelerine çoğalma, antikor üretme ve salgılama sinyali verilir. Plazma hücrelerine dönüşen B hücrelerinden üretilen antikorların yapısı inflamasyonunu türünü belirler. Periodontal dokularda üretilen primer antikor IgG'dir. Üretilen antikorlar koruyucu nitelikte ise ve enfeksiyonu ortadan kaldırırsa hastalık ilerlemez. Eğer poliklonal B hücre aktivitesi zayıf ve yetersiz Th1 yanıtı verilirse; Th2 hücre yanıtı dominant olur ve koruyucu olmayan antikor üretimi ile ilerleyici periodontal lezyonun gelişimine yol açılır. Yerleşik lezyonda aşırı vasküler yanıt gözlenir. Kan damarları etrafında enflamatuvar hücre infiltratı, antikor-antijen kompleksleri ve kompleman ürünleri bulunur. Bu durum venöz dolaşımın bozulmasına, anoksiye ve eritrosit göçüne sebep olur. Klinikte ise diş eti renginin morumsu kırmızı rengi ve ödemin artması şeklinde gözlemlenir. Yerleşik lezyonda birleşim epitelinin diş ile bağlantısı kaybolmuş, bağ dokuya epitelyal retepegler uzanmış ve epitelin büyük kısmı derinleşen sulkusu döşeyen cep epiteline dönüşmüştür. Bu aşamadan sonra kollajen kaybına ek olarak

ataçman kaybı gerçekleşirse periodontitise geçiş gerçekleşir ve histolojik olarak bu aşamaya ilerlemiş lezyon denir.

İlerlemiş Lezyon

Disbiyozisin derinleşmesi ve enflamatuvar yanıtın kontrol altına alınamamasıyla ilerlemiş lezyona geçiş meydana gelir. Bu lezyonda baskın hücre tipi B hücre ve plazma hücreleridir. *P.gingivalis*, *A.a* ve *F.nucleatum* gibi patojenler B hücrelerini aktive ederek antikor üretimini uyarırlar. Ayrıca T hücre yanıtını azaltarak hücrel immüniteyi baskırlar (82-84). Yapılan çalışmalarda periodontitisli bireylerin serum ve diş eti oluğu sıvısında, aktifleşmiş B hücrelerinden *P.gingivalis* ve *A.a* karşı üretilmiş yüksek antikor titreleri tespit edilmiştir (85, 86). İlerlemiş lezyonda gözlenen periodontal cep oluşumu bakteri retansiyonu için artmış yüzey alanı anlamına gelir ve anaerop bakteri kolonizasyonu için ideal ortam kurulur. Mikrobiyal atağın artması ile IL-1, TNF- α , prostoglandin (PG) E2 gibi sitokinlerin devamlı üretimi söz konusudur. Fibroblastların aktive olmuş B hücrelerinden salınan IL-1 TNF- α , IL-6 ve PGE₂ ile uyarılmasıyla hücre dışı matriksin yıkılmasından sorumlu matriks metalloproteinazlar üretilir (87). Lezyon ilerledikçe alveoler kemik kaybı da görünür hale gelir. Aktive B hücreleri IL-1 β ve kemik yıkımıyla ilişkili Reseptör Aktive Edici Nükleer Faktör kappab ligandı “*Receptor Activator of NF-k β Ligand*” (RANKL) üreterek kemik rezopsiyonunda rol oynar (88).

2.6. Periodontal Hastalıkta Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar (MMP) yapısal olarak birbirine benzer ancak genetik olarak farklı; nötral ph’da işlev görerek hücre dışı matriks ve bazal membran bileşenlerini yıkan, çinko (Zn²⁺) ve Ca²⁺ bağımlı bir endopeptidaz ailesidir (89). Bu aileye dahil olan 23 enzim, esas olarak substrat özgülüğü ve moleküler yapıları temel alınarak; kollajenazlar (MMP-1,-8,-13), jelatinazlar (MMP-2,-9), stromelizinler (MMP-3,-10,-11), membran tipi matriks metalloproteinazlar (MMP-14,-15,-16,-26) ve diğer matris metalloproteinazlar olarak 5 grupta sınıflandırılırlar (11). MMP'lerin temel yapısı, enzimatik latent dönem için bir oto-inhibitör ön alan (prodomain), katalitik alan ve genellikle MMP substratlarının tanınması ve konumlandırılmasında rol oynayan C-terminal hemopeksin benzeri alandan oluşur (90).

Matriks metalloproteinazlar; doku gelişimi, remodeling, yara iyileşmesi gibi fizyolojik süreçlerde ve patolojik enflamatuvar doku yıkımında rol oynayan enzimlerdir.

Aktivasyonları; gen ekspresyonu, proenzim aktivasyonu ve MMP doku inhibitörleri (TIMP'ler) gibi endojen inhibitörler tarafından enzim inhibisyonu yoluyla sıkı bir şekilde düzenlenir (90). Bugüne kadar matriks metalloproteinazların doku inhibitörü ailesinin dört üyesi (MMP 1–4'ün doku inhibitörü) tanımlanmıştır. TIMP'ler inhibisyona ek olarak MMP'lerin taşınmasını, stabilizasyonunu ve hücre dışı matriksteki lokalizasyonlarını düzenler.

Matriks metalloproteinazlar periodontal hastalıklarda hücre dışı matriks, bazal membran ve alveoler kemik yıkımıyla ilişkili anahtar enzimdir. Periodontal sağlık durumunda MMP gen transkripsiyonu çok az iken periodontal inflamasyonda transkripsiyonun up-regüle edildiği açıktır (11). Yapılan çalışmalarda kontrol bireyleri ile kıyaslandığında periodontitis hastalarının diş eti oluğu sıvısında büyük oranda PMN kaynaklı kollajenaz tespit edilmiştir. Başlangıçta metalloproteinazların ekspresyonu ve patolojik salınımının yalnızca nötrofillerle sınırlı olduğu düşünülüyordu (91) ancak artık diş eti epitel hücreleri, fibroblastlar, makrofajlar, kemik ve endotelial hücreler dahil olmak üzere geniş bir hücre yelpazesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (89). Periodontitiste başlıca kollajen parçalayıcı enzim, esas olarak nötrofiller tarafından üretilen matriks metalloproteinaz-8'dir. Diş eti oluğu sıvısında ve tükürükte tespit edilen bu enzimin ana işlevi interstisyel kollajenin bozulmasıdır (11, 92). Nötrofiller sitokinlerin yanı sıra MMP- 8 ve -9 salgılayarak hücre dışı matriksin bozulmasına ve diğer efektör hücrelerin matriks metalloproteinazları üretmek için sinyal göndermesine neden olur (93). MMP'lerin sekresyonları çeşitli sitokinler tarafından uyarılır ya da down-regüle edilmektedir. MMP'ler için ana uyarıcı sitokinler; TNF- α , IL-1 ve IL-6'dır (11). Ayrıca belirli sitokinler spesifik olarak belirli MMP'ler ile ilgilidir. Örneğin IL-1 β ve TNF- α , diş eti fibroblastlardan MMP-3, -8 ve -9'un salgılanmasını ve osteoblastlardan MMP-13'ün salgılanmasını uyabilir (11). Yapılan çalışmalar matriks metalloproteinazların yalnızca hastalıkla ilişkili enflamatuvar eksudalarda değil diş eti dokusu örneklerinde de öne çıktığını ve doku yıkımıyla ilişkili CD22⁺ B hücreleri ile korele olduğunu göstermektedir (94-96).

Ek olarak çalışmalarda; bakteriyel lipopolisakkarit gibi uyarıcıların matriks metalloproteinazların aktivasyonundan sorumlu glikoproteinleri uyarma düzeyi ile; konak duyarlılığı ve periodontitis şiddeti arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (97).

Matriks Metalloproteinaz-9 (Jelatinaz- β)

Matriks metalloproteinaz-9, bazal membranın tip IV kollajeni dahil olmak üzere çeşitli hücre dışı matriks elamanlarını yıkan jelatinolitik bir enzimdir.(98) MMP-9 hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda hücre dışı matrisin birçok bileşenini denatüre etmek üzere keratinositler, fibroblastlar, osteoklastlar, eozinofiller, nötrofiller ve makrofajlar gibi çeşitli hücre popülasyonları tarafından inaktif (pro-form) zimojenler olarak sentezlenirler. Etkin hale geldiğinde ise çok sayıda doku substratını parçalayabilir (98).

Periodontal hastalıklarda enfekte diş eti dokularının birleşim ve cep epitelinde PMN lökositler ve keratinositler tarafından ekprese edilir (95). MMP-9 sentezi çeşitli sitokinler; özellikle TNF- α , büyüme faktörleri; epidermal büyüme faktörü (EGF), lipopolisakkarit ve fosfolipaz C gibi bazı bakteriyel ürünler tarafından uyarılır (99, 100).

Ek olarak şiddetli periodontal hastalıkta MMP'lerin doku inhibitörlerinin yetersiz çalışmasıyla MMP aşırı üretiminin uyarıldığı bilinmektedir. Agresif ve kronik periodontitisli(KP) bireylerde TIMP-2 gen polimorfizminin sebep olduğu MMP-2 ve MMP-9 aşırı üretiminin doku yıkımından sorumlu olduğu gösterilmiştir (100, 101).

Periodontal inflamasyonun şiddetinin artması ile nötrofillerin tersiyer granüllerinden salınan MMP-9 seviyeleri periodontitisli bireylerin diş eti oluğu sıvısında gingivitis ve sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulunmuştur. Buna karşılık periodontal hastalıkların tedavi edilmesiyle doku yıkımı kontrol altına alınır ve diş eti oluğu sıvısındaki artmış MMP-9 seviyelerinde düşüş gözlenir (102).

MMP-9 seviyelerinin periodontitisli bireylerin serum ve DOS sıvılarında arttığını gözlemleyen çalışmalarda; bu enzim seviyesindeki artış ile periodontitise sahip hastanın durumunun doğru şekilde yansıtılabileceği ifade edilmiştir (103). Bu doğrultuda MMP-9 seviyelerinin periodontal inflamasyon ilişkili biyolojik sıvılarda tespiti ile periodontal hastalık tanısında etkili bir biyobelirteç olabileceği görüşü ortaya koyulabilir. İlişkili olarak bir çalışmada; tükürük MMP-9 seviyesini tespit ederek periodontitisli ve peridontitis ilişkili sistemik hastalık öyküsü bulunan hastaların klinik pratikte taranmasını sağlayan hızlı tanı testlerinin sensitivitesi %92 olarak bulunmuştur (104).

2.7. Periodontal Hastalıkta Sitokinler

Sitokinler; hedef hücreler üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanan, hücre içi sinyal kaskadlarını başlatan ve değiştirilmiş gen regülasyonu yoluyla hücrede fenotipik değişikliklere neden olan çözünür proteinlerdir (11). Düşük konsantrasyonlarda etkinlik gösterirler, dokularda geçici olarak üretilirler ve esas olarak üretildikleri dokularda etkilidirler. Otokrin (salınımını kendisinin denetlediği) veya parakrin (diğer sitokinlerin etkisi ile gerçekleşen) yollarla kendi ekspresyonlarını düzenleyen sitokinler; çok sayıda hücre tipi üzerinde farklı etkiler gösteren pleiotropik polipeptitlerdir (105, 106). Sitokinlerin sinerjistik çalışarak birbirlerinin etkilerini artırabildikleri, onları üreten hücreleri veya bitişik hücreleri uyarak doğrudan hücre-hücre etkileşimi yoluyla etki gösterebildikleri bilinmektedir. Ayrıca sitokinler diğer sitokinlerin ve sitokin reseptörlerinin ekspresyonunu da uyabilirler (107). Periodontal hastalıkların patogeneğinde sitokinler arası dinamik ve karmaşık etkileşimlerin hâkim olduğu kabul edilmektedir (108, 109). Sitokinler periodontal inflamasyonun akut ve erken kronik fazında nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilirken; yerleşik ve ilerlemiş lezyonlarında lenfositler tarafından üretilir (11). CD4⁺ lenfositlerden farklılaşan Th1 hücreler; TNF- α , IL-1 β , IL-2, IFN- γ gibi proenflamatuvar sitokinleri; Th2 hücreler IL-4, 5, 13 gibi antienflamatuvar sitokinleri sentezlerler (110). Bir diğer lenfosit alt grubu; Treg hücreler de diğer T hücre alt gruplarının düzenlenmesi ve konağın kendi antijenlerine karşı tolerans gelişiminden sorumlu IL-10 ve TGF- β sitokinlerinin sekresyonunu sağlar.

Sitokin üretiminden sorumlu başka bir hücre grubu ise Th17 hücrelerdir. Bu hücreler; IL1, IL6, IL-21 ve TGF- β ile farklılaşır (111). Th17 hücre sitokinleri IL-17, 21 ve 22; immün yanıtın başında hücre dışı bakterilerle karşı antimikrobiallerin uyarılmasını ve koruyucu hücre göçünü desteklerken; iltihabın ileri evrelerinde ise kemik yıkımından sorumlu reseptörlerin aktivasyonunu yöneterek hem antienflamatuvar hem de proenflamatuvar karakter gösterirler (112, 113). Sitokinler arasındaki bu ilişki immün yanıtın tipini (humoral/hücrel) belirler.

Periodontitiste PAMP'lara karşı verilen TLR aracılı NF- κ B aktivasyonunun, aşırı proenflamatuvar sitokin üretimi ile doku tahribatına yol açtığı bilinmektedir (114, 115). Proenflamatuvar sitokinlerden IL-1 α , β ve TNF- α 'nın osteoklast hücre öncüllerinin farklılaşmasını teşvik ettiği ve ardından osteoklastları aktive ederek

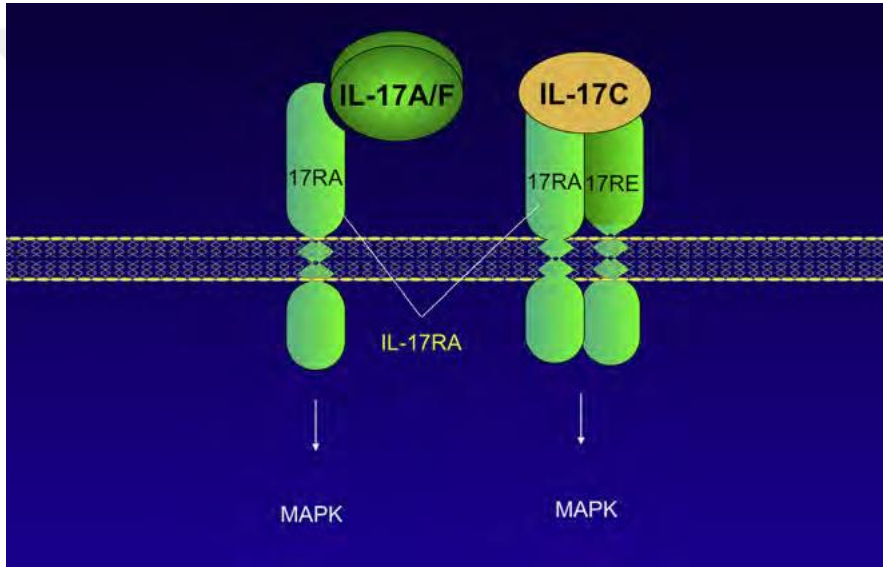
kemik rezorpsiyonunu uyardığı rapor edilmiştir (105). TNF- α , IL-1 β ile periodonsiyumdaki birçok hücre tipi tarafından üretilir. Lökositler ve endotel hücreleri üzerindeki adezyon moleküllerini artırır, kemokinlerin üretimini uyararak dolaşımdaki lökositleri iltihabi bölgelere toplarlar (116). Çalışmalara göre IL-1 β , periodontitis hastalarının diş eti biyopsi örneklerinde ve DOS’unda sürekli olarak artan seviyelerde bulunmuş ve genellikle tedaviden sonra düşük konsantrasyonlarda saptanmıştır (117). Bu nedenle IL-1 β periodontal hastalık patogenezinde önemli bir role sahiptir. Ayrıca, IL-1 β ’nin, MMP’lerin aktive etmesi sebebiyle kemik rezorpsiyonu ve bağ dokusu yıkımı için güçlü bir uyarıcı olduğu doğrulanmıştır (118). IL-1 β hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık tepkilerinde yer alan IL-1 sitokin ailesine dahildir. Bu ailenin diğer üyeleri IL-1 α , IL-18, IL-33, IL-36, IL-37 ve IL-38’dir (13). Periodontal hastalık patogeneziyle en güçlü bağa sahip diğer sitokinler ise IL-6 ve RANK/RANKL/OPG ağıdır. IL6; dendritik hücreler, makrofajlar, B hücreleri ve T hücreleri ve fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücreleri dahil olmak üzere immün sistem dışı hücreler ve birçok aktifleşmiş immün hücre türünden salgılanır (13). LPS, IL-1, IL-17 ve TNF- α aktivasyonu ile NF- κ B aracılı IL-6 transkripsiyonu etkili bir şekilde uyarılır (119). IL-6, kronik inflamasyonda iyi karakterize edilmiş önemli bir oyuncudur ve birçok hücrede birden fazla işlevi olduğu kanıtlanmıştır (13). CD4⁺ T hücrelerin Th17 hücrelere farklılaşmasını uyarır (120). Birlikte ele alındığında, bu sonuçlar, IL-6’nın PAMP’lar ve proenflamatuvar sitokinler tarafından uyarılan bir enflamatuvar amplifikatör olduğunu ve IL-6’nın adaptif immün yanıt üzerinde proenflamatuvar bir etkiye sahip olduğunu gösterir (13). Ek olarak, IL-6’nın kemik homeostazına katıldığı bildirilmiştir. Osteoklastların farklılaşmasına ve kemik rezorpsiyonuna yol açan RANKL reseptör aktivatörünün ekspresyonu IL-6 tarafından artırılır (121).

Periodontal hastalıklarda doku kaybı esas olarak immün yanıtı tetikleyen ve baskılayan sitokin aktiviteleri arasındaki dengesizlikler ile ilişkilendirilir (122). Bu sebeple pek çok sitokin araştırılmaya devam edilmektedir.

İnterlökin-17 (IL-17)

IL-17 sitokin ailesi, en yeni tanımlanan sitokin grubudur. IL-17A, B, C, D, E ve IL-17F olmak üzere 6 üyeden oluşur; IL-17 veya IL-17A; bu sitokin ailesinin kurucu üyesidir (123-125).

IL-17/IL-17A aktive olmuş Th17 hücreleri tarafından üretilen proenflamatuvar bir sitokindir (126). Sinyalizasyonunu IL-17RA (CD217) olarak tanımlanan reseptörüne bağlanarak gerçekleştirir ve çok çeşitli dokularda ve hücre tiplerinde eksprese edilir. IL-17RA IL-17 ile uyarıldıktan sonra proenflamatuvar moleküllerin üretimini uyararabilmek için bir dizi sinyal kaskadını aktive eder. Öte yandan IL-17 sinyalizasyonu için IL-17RA tek başına yeterli değildir: IL-17RC ile beraber heterodimerik bir reseptör kompleksi oluşturarak sinyal vermektedir. Bu reseptör kompleksine sitozolik bir protein olan Act1 (NF- κ B aktivatörü) bağlanmasıyla TRAF-6 etkileşimi gerçekleşir. TRAF-6 ve Act1 etkileşimi NF- κ B aktivasyonunu gerçekleştirmesine aracılık eder (124).



Şekil 2.4. IL-17 Reseptör Kompleksi (127)

IL-17, Th17 hücrelerinin imza sitokini olmasına rağmen CD8⁺T hücreler, $\gamma\delta$ T hücreleri, NK hücreler ve doğal lenfoid hücreler (Innate Lymphoid Cell) dahil olmak üzere diğer doğal ve kazanılmış immün sistem hücreleri tarafından da eksprese edildiği bilinmektedir. $\gamma\delta$ T hücreleri, lenfoid dokularda ve kanda nispeten küçük bir lenfoid hücre alt kümesini oluşturur. Bu hücreler mukoza alanlarında TCR bağlantısı olmadan IL-1 ve IL-23 gibi doğuştan gelen sinyaller tarafından IL-17 üretmek üzere tetiklenebilen büyük bir hücre alt kümesidir (128, 129). IL-17 kendisi gibi TCR aktivasyonundan bağımsız olarak IL-23 tarafından düzenlenen IL-17F ile birlikte kısmen granülopoez ve kemokin stimülasyonu ile nötrofilleri harekete geçirir (130).

Periodontal hastalıkta konak yanıtı açısından dikkat çekici durum enflamatuvar yanıt için önemli rol oynayan sitokinlerin normal doku homeostazının da önde gelen

düzenleyicileri olmalarıdır. Periodontitis ile ilişkilendirilen sitokinlerin mRNA ekspresyonu klinik olarak sağlıklı diş eti dokularında da bir dereceye kadar tespit edilmiştir (131). IL-17; T hücre aktivasyonunu, nötrofil göçü ve aktivasyonuna bağlayan önemli bir sitokindir; patojenlere karşı koruyucu doğal immün yanıtı yardımcı olurken (112, 132) romatoid artrit, multipl skleroz, psöriasis ve enflamatuvar bağırsak hastalığı dahil olmak üzere çok sayıda otoimmün ve enflamatuvar durumla ilişkilendirilmiştir (133).

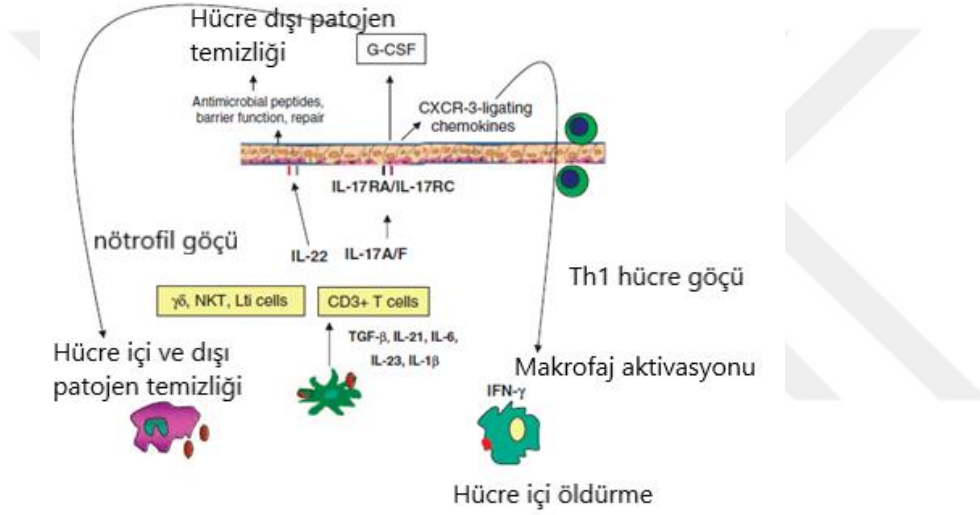
Nötrofil homeostazının devamlılığı periodontal sağlık için önemlidir çünkü normal nötrofil aktivitesindeki herhangi bir bozulma potansiyel olarak periodontitis gelişimine neden olabilir (49, 134). IL-17, kararlı durumdaki nötrofil sayılarını koruyan önemli bir geri bildirim mekanizması bileşenidir (135). IL-23 ile uyarıldıktan sonra granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) up-regülasyonu yoluyla granülopoezi ve olgun nötrofillerin kemik iliğinden dolaşıma çıkışını destekler (136). Aynı zamanda IL-17 hücre dışı patojenlere karşı konak savunmasına aracılık eder ve periodontitiste IL-22 ile birlikte koruyucu antimikrobiyal peptit üretimini uyarır (112, 132, 137-140).

Öte yandan IL-17, en başta akut faz yanıtının aracıları; IL-6'nın, nötrofile spesifik kemokin ligandları; CXCL-1, 2, 5 ve 8'in, proenflamatuvar ve/veya kemik rezorptif sitokinler; TNF, IL-1 β , RANKL ve MMP'lerin uyarılmasını içeren güçlü bir enflamatuvar yanıt başlatma yeteneği ile bilinir (141-144). Hedef hücre kitlesi başta epitel ve endotel hücreleri olmak üzere fibroblastlar, kondrositler, osteoblastlar ve snovial hücrelerdir (136). Ancak IL-17 tek başına güçlü bir enflamatuvar yanıt oluşturmak için yetersizdir; TNF gibi enflamatuvar araçlarla işbirliği veya sinerji içinde çok sayıda hedef genin ekspresyonunu up-regüle ederek güçlü bir enflamatuvar kaskad başlatabilmektedir (145-148). IL-17; TNF ile birlikte CXC 1, 2 ve 5'in endotel hücrelerinden ekspresyonunu artırarak kandan dokuya nötrofil göçünü desteklerken (146), Th17 farklılaşması için gerekli IL-6 üretimi TNF ve IL-1 β beraberliği ile sağlanır (149). Periodontal inflamasyonda Th17 hücre temelli yanıtın oluşmasını destekleyen bir diğer faktör; periodontitisle ilişkili *P.gingivalis*'tir. *P.gingivalis* virülans faktörleri sayesinde Th1 hücre yanıtını engelleyerek IL-17 tarafından yönlendirilen bir enflamatuvar yanıt başlatır (136). Periodontitisten etkilenmiş

bireylerin DOS örneklerine bakıldığında subgingival *P.gingivalis* varlığı ile artmış DOS IL-17 seviyelerinin ilişkili olduğu saptanmıştır (150).

Şekil 2.5. IL-17'nin Enflamatuvar Yanıttaki Rolü (112)

IL-17'nin proenflamatuvar olarak romatoid artrit, osteoporoz ve periodontal hastalık gibi kemikle ilgili hastalıklarla ilişkilendirilmesinin nedenine bakıldığından ise kısmen osteoblastlar ve diğer stromal hücrelerden RANKL ekspresyonunu uyarma kapasitesi nedeniyle güçlü osteoklastojenik özelliklere sahip olmasıdır (151). Periodontal inflamasyon ilerlemesiyle bozulan kemik homeostazından sorumlu araçlar; TNF/TNF-R ailesi içindeki RANKL, onun fonksiyonel reseptörü RANK ve tuzak



reseptörü OPG'den oluşan bir protein üçlüsüdür (152). Bu proteinler, osteoklast farklılaşması ve işlevi için anahtar faktörlerdir. Osteoklastogenezis RANKL'ın osteoklast öncü hücreleri üzerindeki RANK'a bağlanmasıyla teşvik edilirken OPG; RANKL ile RANK etkileşimini inhibe ederek osteoklastogenezis sınırlar (136). Bununla birlikte artan periodontal inflamasyonla birlikte OPG/RANKL oranı azaldığı için OPG'nin kemiği koruyucu etkisi periodontitiste azalmaktadır (153). IL-17 ayrıca MMP ekspresyonunu uyarma kapasitesi sayesinde potansiyel olarak hem bağ dokusunun hem de kemiğin yıkımına aracılık edebilir (136). Kronik enflamatuvar kemik yıkımı paterni bakımından periodontitis ile benzerlik taşıyan romatoid artritte meydana gelen kemik kaybıyla ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında; Th17 hücrelerinin hem IL-17 hem de RANKL eksprese etmesi sebebiyle bu hücreler için enflamatuvar kemik yıkımıyla ilişkili özelleşmiş bir osteoklastojenik T hücre alt kümesi olarak işlev gördüğü yorumu yapılabilir (154, 155).

İnterlökin 36 gama (IL-36 γ)

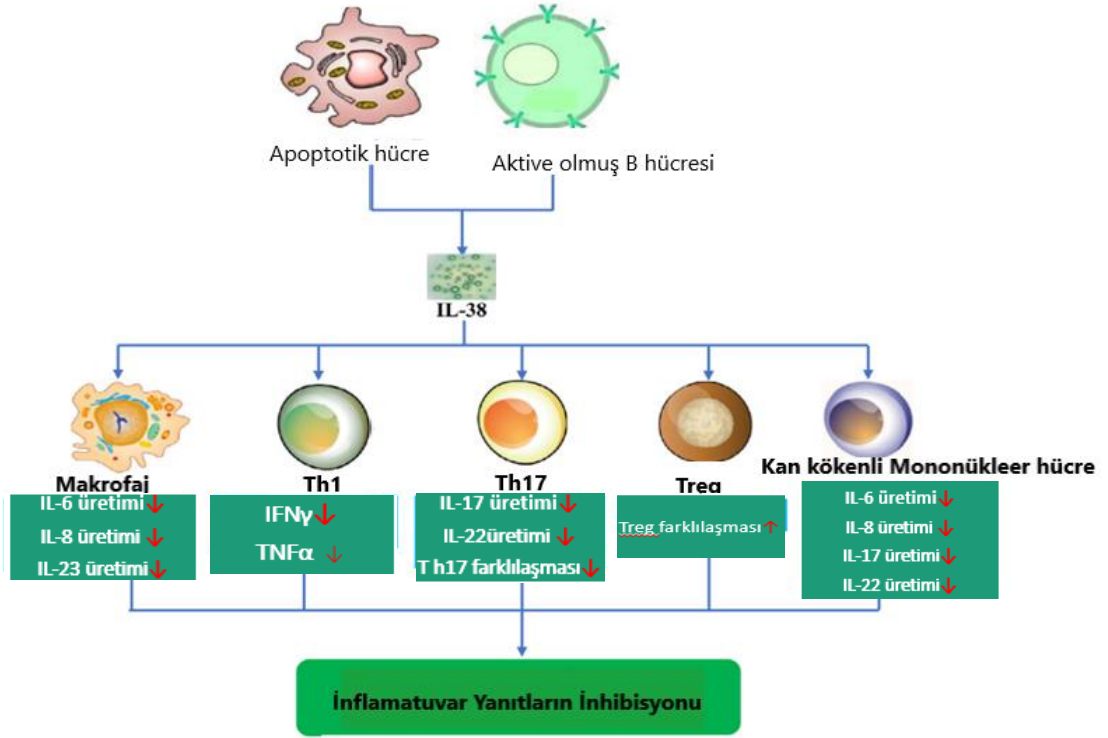
IL-36 γ (IL-1F9), IL-1 ailesine mensup IL-36 sitokinlerinin 3 alt üyesinden biridir (156). Ailenin diğer üyeleri IL-36 α (IL-1F6) ve IL-36 β (IL-1F8) ile birlikte ağırlıklı olarak epitel hücreleri tarafından eksprese edilir. Hedef hücreleri immün hücreler, epitel hücreleri ve fibroblastlar dahil olmak üzere bir dizi hücre grubudur (157). IL-36 sitokinlerinin sinyal aktivasyonları; IL-36 reseptör (IL-36R) alt birimi ve IL-1 aksesuar reseptöründen (IL-RAcP) oluşan heterodimerik bir reseptöre bağlanma sonucunda NF-k β ve mitojenle aktifleşen protein kinaz “*mitogen-activated protein kinase*” (MAPK) transkripsiyon faktörlerinin uyarılması ile başlar (157). IL-36R, dendritik hücreler ve T hücreleri üzerinde eksprese edilir. Dendritik hücrelerin IL-36 ligandlarıyla reseptör kompleksi oluşturması, Th1 hücreleri için uyarıcı niteliği taşır. Bu uyarılmadan ise IFN- γ , IL-17 ve IL-4 aktivasyonu sorumludur (158, 159).

IL-36 γ , esas olarak keratinositler tarafından eksprese edilir ve insan keratinositlerinde otokrin mekanizmalarla sentezlenerek salınımları artırılır (157). Periodontal hastalıklarla benzer ortak proenflamatuvar sitokin mekanizmalarına sahip Psöriasis, popülasyonun yaklaşık %2'sini etkileyen yaygın bir kronik enflamatuvar cilt hastalığıdır (160). Psöriasisli hastaların deri kültürlerine bakıldığında IL-36 γ sekresyonlarının TNF- α , IL-17 veya IL-22 ile ilişkili olarak arttığı bildirilmiştir (161, 162). Akciğerlerde ise *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) ve rinovirüs dahil olmak üzere enfeksiyöz ajanların bronşial epitel hücrelerinden güçlü bir şekilde IL-36 γ sekresyonunu sağladığı görülmüştür. Aynı zamanda IL-36 γ 'nın rinovirüs tarafından uyarılması, astımlı bireylerin epitel hücrelerinde sağlıklı bireylere göre daha fazla gerçekleşmiştir (160, 163, 164).

İnterlökin-38 (IL-38)

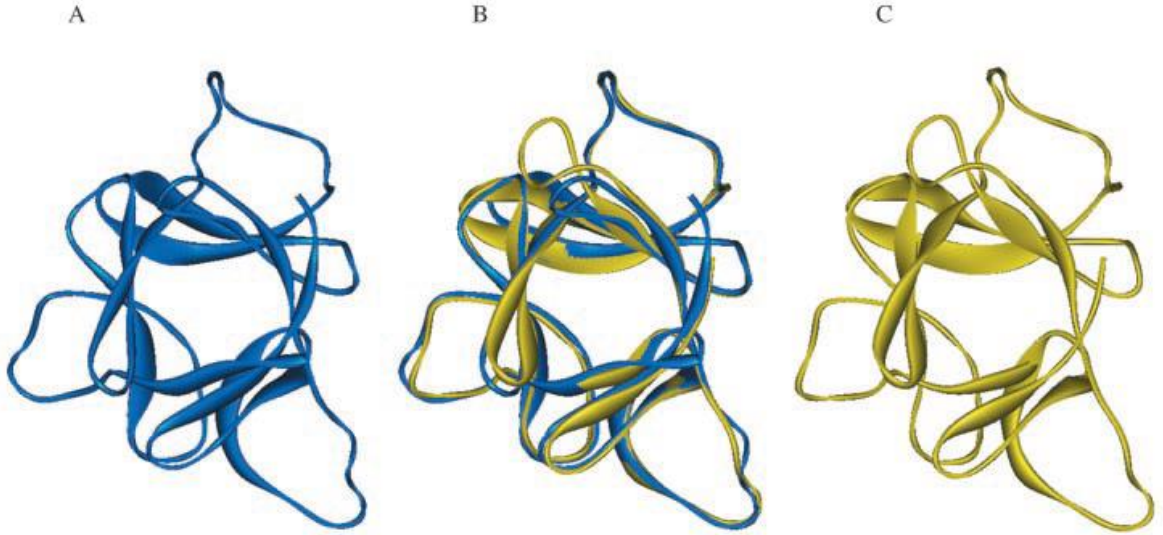
Başlangıçta IL-1HY2 olarak adlandırılan IL-38 (IL-1F10); IL-1 sitokin ailesinin en son tanımlanan üyesidir (165). IL-38 geni, IL-1 gen kümesinin yer aldığı 2. kromozom üzerinde (2q13-14.1), IL-1Ra ve IL-36Ra'yı kodlayan gen lokusunun yanında bulunur (166-168).

IL-38'in 152 amino asit uzunluğundaki öncü proteini, sırasıyla IL-1Ra ve IL-36Ra %37 ve %41 ile yüksek düzeyde homolojiye ve yaklaşık 16.9 kDa(kilodalton) moleküler kütleyle sahiptir (166, 169). IL-38 esas olarak kalp, plasenta, fetal karaciğer, cilt, dalak, timus ve tonsil gibi bazı organlarda ayrıca çoğalan B hücreleri, epitel ve apoptotik hücrelerde eksprese edilen anti-enflamatuvar bir sitokindir (170).



Şekil 2.6. IL-38'in İmmün Mekanizmaları (170)

IL-38'in yapısal modeli, 12-β zincirli bir yonca şeklindedir ve IL-1Ra'nın kristal yapısı ile bazı ortak noktalara sahiptir (170, 171) (Şekil 2.7). Ancak IL-1 ailesinin sahip olduğu kaspaz-1 bölünme alanına ve sekresyonu için sinyal peptidine sahip değildir (169, 172) Anti-enflamatuvar özelliklerini ise kısmen interlökin 1 reseptörü aksesuar protein benzeri 1'e (IL-1RAPL1) veya IL-36 reseptörüne (IL-36R) bağlanarak gösterir. IL-38'in reseptöre bağlanması ile IL-1β, IL-6 ve TNF-α dahil olmak üzere enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda yer alan NF-κβ sinyal yolağı bloke edilir (173).



Şekil 2.7. A:IL-1Ra'nın Kristal Yapısı, B:Hem Kristal Yapı hem de Öngörülen Yapısal Modelin Çakıştırılmış Görüntüsü C:IL-38'in 12- β Zincirli Öngörülen Yapısal Modeli (169).

IL-38'in IL-36R'üne bağlanmasının incelendiği bir çalışmada IL-38'in IL-36Ra'yı bloke ederek hareket edebildiği gösterilmiştir (18). Dolayısıyla IL-36'nın kısmi reseptör antagonisti gibi davranmaktadır. IL-38'in T hücre sitokinleri; IL-17 ve IL-22'nin üretimini inhibe ederek IL-36 γ aracılı IL-8 üretimini azaltabildiği, böylece enflamatuvar yanıtı baskıladığı bilinmektedir (166). Buna ek olarak IL-38; LPS ile uyarılmış makrofaj ve periferik kan monositlerinden IL-6 ve IL-8 salınımını azaltmaktadır (173, 174).

Antienflamatuvar ve proenflamatuvar araçlar arasındaki denge durumunun bozulması bu araçların sağlıklı ve hasta bireylerde farklı miktarlarda tespit edilmesi ile sonuçlanmaktadır. Klinik olarak enflamatuvar araçların bireylerin biyolojik sıvılarında anlamlı farklar gösterebilmesi ile son dönemde periodontal hastalığın etyopatogenezinin daha iyi anlaşılacağı ve tedavi seçeneklerinin artabileceği düşünülmektedir.

2.8. Diş Eti Oluğu Sıvısı ve Periodontal Hastalık

Diş eti oluğu sıvısı; diş eti oluğunu döşeyen epitel dokusuna bitişik dentogingival damar ağından, diş eti oluğuna ve/veya periodontal cebe sızan, serum kökenli fizyolojik bir sıvıdır (175). Kan plazmasından köken alan DOS; diş eti oluğunda farklı kompozisyonlarda bulunur ve diş eti oluğunun ekolojisini belirleme özelliğine sahiptir.

Sulkuler sıvı veya DOS'un varlığı; 19. yüzyıldan beri bilinmektedir ancak bileşimi ve oral savunma mekanizmalarındaki olası rolü 1950'lerde açıklanmıştır (176). Brill ve Krasse'nin; köpekler üzerinde yaptığı bir çalışmada sistemik dolaşıma verilen floresans özellikli boya, sulkusun dış duvarına koyulan filtre kağıdı ile emilmiş böylece sulkus içindeki bu sıvının periferik kan dolaşımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (177). Aynı zamanda yapışık diş etinde ve mukozalarda boyanma olmaması sulkuler epitel ve birleşim epiteli ile oral epitel arasındaki geçirgenlik farkını da ortaya koymuştur (177). Bu sonuçlara ek olarak Alfano; DOS'un sağlık durumun dokular arası ortamda bulunan plazmadan yoksun bir sıvı (transüda) olarak var olduğunu ancak gingivitis ve periodontitis varlığında gerçek bir enflamatuvar eksüdaya (plazmadan zengin damar dışı sıvı) dönüştüğünü belirtmiştir (178).

DOS'un biyokimyasal analizi, periodontal hastalıkta konak yanıtını değerlendirmek için invaziv olmayan bir yol sunmaktadır. Periodontal hastalık sürecinin aktif fazı, diş eti sıvısının bileşenleri aracılığıyla ölçülebilir veya değerlendirilebilir. Bakteriyel enzimler, bakteriyel bozunma ürünleri, bağ dokusu bozunma ürünleri, konak aracılı enzimler, enflamatuvar araçlar ve hücre dışı matriks proteinleri periodontitisin aktif fazı boyunca diş eti oluğu sıvısında daha yüksek seviyelerde tespit edilebilir (179).

Periodontal hastalıklarda DOS'un tanı kapasitesi ve içeriğinin yanı sıra DOS akış hızının da değerlendirilmesi önemlidir (178). DOS akışı veya akış hızı tanımı diş eti oluğuna giren veya oluktan çıkan sıvının hareketi olarak açıklanabilir (180). DOS akışının periodontal cep ekolojisi için önemli bir belirleyici olduğu bilinmektedir (181). Normal koşullarda DOS akış hızı çok azdır ve mikrolitre (μ l) ile ifade edilir. Sağlıklı diş eti oluğunda da DOS akışı minimumdur (180, 182). Diş eti inflamasyonunun şiddeti ve cep derinliği arttıkça DOS akış hızı ve hacmi doğru orantılı olarak artar (182-184). Üretilen DOS miktarı ise doğrudan inflamasyonla artan damarsal geçirgenlik ve cep epitelinin ülserasyonu ile ilişkilidir (183, 185, 186). Yapılan çalışmalar, DOS akış hızındaki artışın inflamasyonun hassas bir erken bulgusu olduğuna işaret etmektedir ve DOS hacminin diş eti inflamasyonunun değerlendirilmesi için objektif, duyarlı ve güvenilir bir araç olduğunu öne sürmektedir (187, 188).

2.8.1.Diş Eti Oluğu Sıvısının Toplanması ve Hesaplanması

Diş eti oluğu sıvısının toplanması basit gibi görünen ancak detay ve dikkat gerektiren, minimal invaziv bir yaklaşımdır. Literatürde DOS örneklerinin elde edilmesinde birçok yöntem tanımlanmıştır: (181, 189, 190)

1. Kapiller tüp yada mikropipet yöntemi: DOS toplanacak bölgede izolasyon sağlandıktan sonra diş eti oluğu girişine yerleştirilen tüplere DOS'un kapiller hareket ile toplanmasıdır. Bu yöntemde az miktarlardaki DOS'un toplanması zordur.
2. Diş eti yıkama metodu: Diş eti oluğunun izotonik solüsyon ile yıkanması ve bir süre sonra dilüe edilmiş sıvının mikrosiringalarla toplanması metodudur. Yöntem, yıkama sonrası DOS hacmi ve içeriğinin tam olarak elde edilememesi gibi dezavantajlara sahiptir.
3. Emici kağıt filtreler: En yaygın toplama yöntemi diş eti oluğunun girişine, kısmen içine veya tabanına koyulan emici kağıt şeritlerin kullanımıdır (190). Bu yöntemde günümüzde en sık Periopaper (Oraflow Inc) kullanılmaktadır. Periopaper 1.2µl ye kadar sıvı hacmi emebilen özel tasarlanmış kağıt filtrelerdir. Periopaperlar genellikle hafif direnç hissedilene kadar diş eti oluğu içine yerleştirilmek suretiyle kullanılırlar. Ancak periodontal ceplerde genellikle inflamasyonun şiddetine bağlı olarak çok fazla DOS hacmi olacağından kağıt filtrenin tümüyle ıslanmasının önüne geçebilmek için en fazla 1-2 mm derinliğine yerleştirilmesi gerekmektedir (191).

Kağıt filtre yönteminde emdirilen DOS hacminin hesaplanabilmesi için ise elektriksel kapasitans ölçümü yöntemiyle çalışan Periotron® cihazı kullanılır (191). DOS hacminin doğru hesaplanabilmesi için örneklerin kontamine olmaması gerekmektedir: Griffiths ve ark'nın DOS örneklerinin plak ve tükürükle kontaminasyonuna bağlı olarak DOS hacminde meydana gelen olası değişikliği saptamak için yaptığı çalışmada; kontamine olan (16), şüpheli (16) ve kontaminasyon bulunmadığı düşünülen (58) toplam 90 örnekte sırasıyla %81,5; %5-61,5 ve %5,2-8,6 oranında tükürük proteini (amilaz) tespit edilmiştir ve bu örneklerde daha yüksek periotron skorları ölçülmüştür (192).

2.9.Tükürük ve Periodontal Hastalık

Tükürük (salya); DOS, mikrobiyal bileşenler ve gıda kalıntılarına ek olarak tükürük bezlerinin ekzokrin sekresyonlarından oluşan; serum albümini, antimikrobiyal ve bağışık yanıtı düzenleyici proteinlerden zengin biyolojik bir sıvıdır (193). Tükürük salgısı büyük oranda üç çift büyük tükürük bezi; parotis, submandibular ve sublingual bezler tarafından üretilirken; daha az oranda bukkal, labial ve palatal dokularda bulunan yüzlerce minör tükürük bezinden köken alır (194). Akış hızı günde 800-1.500 ml arasında değişen tükürük, bol ve hemen ulaşılabilir bir biyolojik sıvıdır (195).

Tükürük mukozaların kayganlaştırılması, diş sert dokularının tamponlanması ve oral kavitenin bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunur: İçeriğinde bulunan enzimler, antibakteriyel ajanlar ve antikorlar ile dental plağın oluşumu, olgunlaşması ve plak metabolizması üzerinde önemli bir fonksiyona sahiptir (180, 196-198).

Tükürük salgısının akış hızı ve bileşiminde değişiklikler diştaşı oluşumu, periodontal hastalık ve çürük gelişimi için hazırlayıcı faktör olabilir. Yapılan çalışmalarda deney hayvanlarında tükürük bezlerinin çıkarılmasının diş çürüğü ve periodontal hastalık insidansını önemli ölçüde artırdığı ve yara iyileşmesini geciktirdiği görülmüştür.(199-201) Enflamatuvar diş eti hastalıkları gelişiminde de kısmen tükürük bezi salgısının (kserostomi) azalması etkilidir. Kserostomi; tükürük bezi taşı varlığı, sarkoidoz, Sjögren sendromu, Mikulicz'in hastalığı, radyoterapi, tükürük bezlerinin cerrahi olarak çıkarılması ve diğer faktörlerden kaynaklanabilir (196).

Son zamanlarda tükürük salgısı potansiyel teşhis kapasitesine sahip konak kaynaklı oral bir sıvı olarak araştırılmaya başlanmıştır. Araştırmalar periodontal hastalıkların teşhisi, ilerlemesi ve periodontal sağlığın takibi için tükürükte bulunan biyobelirteçleri tanımlamış ve tükürüğün ölçme potansiyelini ortaya koymuştur (195).

Periodontal hastalıkların tedavisi zaman alıcı ve pahalıdır. Bu nedenle hastalığın önlenmesi, erken tespiti ve idamesi etkin bir şekilde ele alındığında; sağlık sistemine önemli derecede katkı sağlanması muhtemeldir (46). Ek olarak, kronik enflamatuvar hastalıkların patogenezinin anlaşılabilmesi için sağlanan birçok ilerlemeye rağmen; periodontitis henüz yalnızca bağ doku ve kemik yıkımı meydana geldiğinde teşhis edilebilmektedir (109). Ayrıca hastalığın ilerleyişini takip etmek radyografik değerlendirme ve subjektif (görsel) gözlemlerle beraber; sondlamada kanama varlığı, cep derinliği ve ataçman kaybı ölçümünü içeren, beceri ve teknik gerektiren zorlu bir

süreçtir (109, 202). Tükürük analizi periodontal hastalığın her aşamasına ait konak kaynaklı biyobelirteçlerin tanımlanmasına izin vermektedir: (195, 203) Laktoferrin, kollejenaz, lizozim, PGE₂, proenflamatuvar sitokinler ve aspartat aminotransferaz gibi hücre ölümünü işaret eden enzimler tükürükte teşhis edilebilen periodontitis ilişkili biyobelirteçlerdendir (60, 203). Günümüzde artan kullanımı ile tükürük analizi DOS ve serum analizine göre çeşitli avantajlara sahiptir: Kana kıyasla ağızdaki lokal patolojik değişiklikleri çok daha iyi bir şekilde ortaya koyabilmesi, düşük enfeksiyon riski taşıması ve kolay erişilebilir olmasına ek olarak DOS toplamada olduğu gibi klinik ekipmana ihtiyaç duyulmadan çok daha büyük bir hacimde örneklenebilmesi örnekleme için karmaşık becerilere gerek duyulmaması tükürük sıvısının bir teşhis yöntemi olarak kullanımını öne çıkarmıştır (109, 204). Tükürük analizinin dezavantajları arasında ise tükürük üretimi ve akış hızının; sirkadyen ritim, yaş, toplama süresi, sıcaklık, bireyin hidrasyon durumu, kişinin sistemik sağlık ve duygusal durumu gibi faktörlerden etkilenmesi yer alabilir (205-207). Bu potansiyel sınırlamalara rağmen, hem tıpta hem de diş hekimliğinde hastalıkların teşhisi, izlenmesi ve hastaların tedavi önerilerine uyumunun değerlendirilmesi için tükürükteki biyobelirteçlerin analizi önerilmektedir (203).

Diagnostik bir sıvı olarak tükürüğün kullanımı ile başlangıç evresinde hastalığın varlığı tanımlanarak, hastaların mümkün olan en erken aşamada daha az invaziv ve nispeten düşük maliyetli tedaviye erişimi sağlanabilir (195).

2.10. Serum ve Periodontal Hastalık

Serum; kanın fibrinojen ve pıhtılaşma proteinlerinden yoksun, hücresiz, sarı renkli sıvı kısmıdır. Kanın antikoagülan içermeyen tüplerde pıhtılaşmasından sonra santrifüj edilmesiyle serum sıvısı elde edilir. Bileşiminde; su, albumin, globulin, lipoproteinler, aminoasitler, enzimler, hormonlar, çeşitli iyon ve tuzlar, düşük molekül ağırlıklı maddeler bulunur (208).

Periodontitiste, patojen bakterilerin konak savunma sistemini uyarması ile bakteri ürünleri ve enflamatuvar araçlar birleşim epitelinden geçerek periferik kan dolaşımına katılır (23, 209, 210). Bu ürünlerin sebep olduğu düşük dereceli kronik inflamasyonun; (23) bir takım sistemik hastalık ve/veya durumlar ile periodontal hastalıklar arasındaki ilişkiyi gösteren ana mekanizmalardan biri olduğu bildirilmiştir (211). Diyabet (212), kardiyovasküler hastalıklar (213), düşük ağırlıklı bebek doğumları (214) ve solunum

problemleri (215) periodontal inflamasyon varlığı ile korele sistemik durumlardandır. Periodontal hastalıktan etkilenmiş bireylere ait serum sıvısında yapılan çalışmalarda; hastalık patogeneziyle ilişkili enflamatuvar belirteçlerin kan dolaşımına katıldığı tespit edilmiştir. Bu durum; diş destek dokularının yıkımıyla karakterize olan lokalize periodontal hastalığın sistemik sağlık üzerinde etkili olduğu görüşünün ortaya atılmasına öncülük etmiştir (211).

Bu sebeple geçtiğimiz yıllarda periodontitisin sistemik kan bileşenleri ve hücrelerini nasıl etkilediğiyle ilgili araştırmalar artmıştır (209). Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde serum sıvısında periodontal hastalık ilişkili pek çok aracıya ve moleküle rastlanmıştır: Örneğin periodontitisli bireylerin serum sıvısında hastalıkla ilişkili patojenlere karşı antikorların üretildiği ve antikor düzeylerinin sağlıklı kontrollerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (216, 217). Ayrıca IL-6 gibi pro-enflamatuvar sitokinler, serum C-reaktif protein (CRP) ve osteokalsin gibi kemik yıkım proteinleri periodontitisli bireylerin serum sıvısında daha yüksek oranda tespit edilmiştir (217-220). Dolayısıyla bu moleküller periodontal hastalığın tanısı için sistemik biyobelirteçler olarak kullanılabilir. Başka bir çalışmada IL-17 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin, ilerleme hızı yüksek periodontitislerde daha yüksek serum düzeylerine sahip olduğu sonucuna varılmıştır (221). Yanı sıra bu sitokinlerin serum düzeyleri cerrahi olmayan tedavi sonrasında tedavi öncesine göre anlamlı derecede düşük seyretmiştir (221).

Periodontitisin karmaşık doğası göz önüne alındığında, tek bir klinik veya laboratuvar incelemesinin hastalıkla ilişkili tanı, sınıflandırma ve prognoz gibi konuların tümünü ele alması olası değildir (222, 223). Kan tanı testleri; kan örneklerinin basit, hızlı ve nispeten invaziv olmayan şekilde toplanabilmesi sayesinde hastalıkların hasta düzeyinde teşhisi ve takip edilebilmesi için kullanım potansiyeli taşır (219). Bu yüzden serum ve plazma gibi kan sıvılarında hastalık düzeyinde bilgi sağlayan biyolojik belirteçlerin incelenmesi önem kazanmıştır (219). Bu doğrultuda, serum sıvılarında hastalıkla ilişkilendirilen belirteçlerin analiz edilerek; hem periodontal hastalık aktivitesinin değerlendirilebileceği hem de teşhis ve tanı yöntemi olarak kullanılabileceği kanısına varılabilir (219).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Haziran 2020 ile Eylül 2020 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Kliniği'ne muayene amacıyla başvuran periodontal olarak sağlıklı, gingivitis ve Evre II-III Düzey B ve C periodontitis teşhisi koyulan 90 birey dahil edildi. Çalışmaya katılan gönüllülere çalışmanın gerekçesi ve yöntemi anlatıldıktan sonra asgari bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatıldı.(Ek1)

Çalışmamızın uygulanabilirliği için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 27.11.2019 tarih ve 1091 karar numaralı etik onayı alındı.(Ek2) Araştırmamız Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinasyonu (BAP) birimi tarafından TDK-2020 5151 proje numarası ile desteklendi.

3.1 Hasta Seçimi

Çalışmaya periodontal dokuları etkileyebilecek sistemik hastalık ve/veya durumları olan (kardiyovasküler hastalıklar, immün sistem hastalıkları, romatoid artrit, diabetes mellitus, kemoterapi/radyoterapi) ve bulaşıcı bir hastalığı olan (Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu “*Acquired Immune Deficiency Syndrome*” (AIDS), tüberküloz, Hepatit B vb.) hastalar katılmadı. Ayrıca periodontal dokular üzerinde etki gösterebilecek herhangi bir ilaç kullanan, üçüncü azı dişleri hariç 20'den az doğal dişi bulunan, periodontitise bağlı olarak 5 veya daha fazla diş kaybı olan, son 6 ay içerisinde antibiyotik, antienflamatuvar veya immunsupresif ilaç kullanmış ve periodontal tedavi görmüş olan, sigara içen, 18 yaşından küçük 65 yaşından büyük bireyler ile hamile veya laktasyon dönemindeki kadın bireyler dahil edilmedi.

Hastaların muayenesinde ve periodontal durumun teşhisinde klinik periodontal indeksler ve panoramik radyografilerden yararlanılarak üçüncü azı dişleri hariç tüm dişler değerlendirildi. Örnekler yıkımı artıran lokal faktörlerin (dolgu-kron vb.) olmadığı bölgelerden alındı.

3.2 Çalışma Grupları

2017 yılı *Periodontal ve Peri-İmplant Hastalıklar ve Koşullarının Sınıflandırılması Çalıştayı* (2017 World Workshop) 2. konsensüs raporunda bildirilen Periodontal ve Peri-implant Hastalıklar ve Koşulları adlı yeni sınıflandırmaya göre çalışma grupları belirlendi (26):

Sağlıklı Grup (S): Radyografik olarak mine sement bileşimi ile alveoler kemik arası mesafe $\leq 2\text{mm}$, SCD $\leq 3\text{mm}$, tüm ağız sondlamada kanama yüzdesi $\leq \%10$ ve diş etlerinin gingival indeks değerinin (Löe&Silness) ≤ 1 olması kriterlerine göre 20 kadın 10 erkek olarak seçildi.

Gingivitis Grubu(G): Radyografik olarak mine sement bileşimi ile alveoler kemik arası mesafe $\leq 2\text{mm}$, SCD $\leq 3\text{mm}$, tüm ağız sondlamada kanama yüzdesi $\geq \%10$ ve gingival indeks değerinin GI ≥ 2 olması kriterlerine göre 17 kadın 13 erkek olarak seçildi.

Periodontitis Grubu(P): Alveoler kemik kaybı ile birlikte SCD $\geq 5\text{mm}$, KAK $\geq 3\text{mm}$ ve periodontitise bağlı diş kaybı ≤ 4 olması kriterlerine göre 20 kadın 10 erkek olarak seçildi.

Orta Şiddetli-Orta Hızlı Periodontitis (Evre II, düzey B) Grubu (P1): Alveoler kemik kaybı ile birlikte sondlanabilir cep derinliği(SD) $\leq 5\text{mm}$, klinik ataçman kaybı(KAK) 3-4 mm ve periodontitise bağlı diş kaybı olmaması kriterlerine göre 6 kadın 3 erkek seçildi.

Şiddetli- Orta Hızlı Periodontitis (Evre III, düzey B) Grubu (P2): Alveoler kemik kaybı ile birlikte SCD $\leq 6\text{ mm}$; KAK $\geq 5\text{ mm}$, periodontitise bağlı diş kaybı ≤ 4 olması ve RKK%'nin yaşa oranının <1 olması kriterlerine göre kriterlerine göre 8 kadın 3 erkek seçildi.

Şiddetli-Yüksek Hızlı Periodontitis (Evre III, düzey B) Grubu (P3): Alveoler kemik kaybı ile birlikte SCD $\leq 6\text{ mm}$; KAK $\geq 5\text{ mm}$, periodontitise bağlı diş kaybı ≤ 4 ve RKK%'nin yaşa oranının ≥ 1 olması kriterlerine göre 6 kadın 4 erkek göre seçildi.

3.3 Klinik Değerlendirmeler

Çalışmaya dahil edilen hastaların ağız hijyeni ve periodontal sağlık durumlarının klinik olarak teşhisi M.H tarafından periodontal indeks ölçümleri yapılarak belirlendi. Hastaların tüm dişlerinin Plak indeks (PI-Silness ve Löe 1964) ve Gingival indeks (GI-Löe ve Silness 1963) skorları kaydedildi. SCD, klinik ataçman seviyesi ve SK ölçümleri 0.5 mm çapında Williams tipi periodontal sond (Hu Friedy 6/Williams Expro, USA) kullanılarak yapıldı ve tüm ölçümler olgu rapor formuna (ORF) kaydedildi. Periodontal indeksler aşağıda anlatıldığı şekliyle skorlandı.

3.3.1 Plak İndeks (L e ve Silness 1964)

Mevcut plak varlığı L e ve Silness'in plak indeksine (PI) göre dişlerin kurutulmasından sonra dişin 4 yüzeyinden (mezial, distal, bukkal, lingual/palatinal) elde edildi. Toplanan plak skorlarının aritmetik ortalamaları hesaplanarak her dişe 0-3 arasında indeks değerleri verildi (224). Plak indeks değerleri:

0: Mikrobiyal plak yok

1: Serbest diş eti kenarında ve dişe komşu bölgede izlenen plak birikimi mevcuttur. Plak ancak bir solüsyon ya da periodontal sond kullanılarak gözlenebilir.

2: Diş eti kenarında gözlemlenebilir servikal   l ye uzanan orta seviyede plak bulunmaktadır.

3: Diş eti kenarında kronun servikal    te-birlik kısmını açan plak bulunmaktadır. Aproksimal bölgelerde plak gözlenir.

3.3.2 Gingival İndeks (L e ve Silness 1964)

Diş eti inflamasyonunun varlığı tüm dişlerin 4 yüzeyinden (mezial, distal, bukkal lingual/palatinal) L e ve Silness'in tanımladığı GI skorlamasına göre belirlendi. Periodontal sond diş üzerinde gezdirilerek her dişe ait GI skoru belirlendi (225). Tüm ağzın GI skorları aritmetik ortalama alınarak hesaplandı. Her dişe ait ortalama GI skorları toplanıp toplam diş sayısına bölündü ve her hastaya ait GI skoru hesaplandı. GI skor değerleri:

0: Sağlıklı diş eti

1: Hafif inflamasyon varlığı, ödem ve kızarıklık mevcut, sondlamada kanama olmaz

2: Sondlamada kanama varlığı, orta dereceli inflamasyon; diş eti ödemli, kızarık ve parlak görülür.

3: şiddetli inflamasyon varlığı; diş etinde hipertrofi, ülserasyon ve spontan kanama varlığı.

3.3.3 Sondlanabilir Cep Derinliği (SCD)

Her dişin meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midpalatinal ve distopalatinal olmak üzere 6 bölgesinden milimetrik olarak kalibre edilmiş Williams periodontal sondu kullanılarak yapıldı. Serbest diş eti kenarının cep tabanına olan mesafesi milimetre cinsinden ölçüldü. Sond, diş yüzeyine paralel tutularak ölçümler yapıldı, ölçüm sırasında dirençle karşılaşıldığında sonda uygulanan kuvvet bırakıldı.

3.3.4 Klinik Ataçman Seviyesi (KAS)

Her dişin meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midpalatinal ve distopalatinal olmak üzere 6 bölgesinden, mine-sement sınırının cep tabanına olan mesafesi milimetre cinsinden ölçüldü.

Sondlamada Kanama (SK)

Her dişin 6 bölgesinde (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midpalatinal ve distopalatinal) diş eti oluşunun hafifçe sondlanmasından sonra ilgili alanda 10-15 saniye içerisinde kanama oluyorsa “+”, kanama olmuyorsa “-“ olarak değerlendirildi. Kanama görülen alanların toplamının sondlanan toplam bölge sayısına oranının 100 ile çarpılması ile tüm ağız sondlamada kanama yüzdesi hesaplandı (226). Örnek alınan dişlere ait SK yüzdesi ise sondlanan sulkusta kanama varsa “100” kanama yoksa “0” olmak üzere skorlandı.

3.4.Biyokimyasal Örneklerin Elde Edilmesi

3.4.1 Diş Eti Oluğu Sıvısının Elde Edilmesi

DOS örnekleri klinik periodontal indeksler alındıktan ve yapılan klinik ve radyolojik muayene sonucu periodontal teşhisleri koyulduktan 1 gün sonra hastaların tekrar çağırılması ile toplanmıştır. Tüm hasta gruplarında DOS alınacak dişte kron, dolgu vb. restorasyon bulunmamasına dikkat edilmiştir. Her hastada 2 farklı diştten toplam 2 adet DOS örneği alındı.

Periodontal açıdan sağlıklı bireylerde toplam 2 dişin 1’er yüzeyinden rastgele seçilerek, plağa bağlı gingivitisli hastalardan Gİ değeri 2 ve SK (+) olan 2 dişin 1’er yüzeyinden DOS örnekleri elde edildi. Evre II ve III periodontitise sahip bireylerde DOS örnekleri en derin periodontal cebe sahip 2 dişin 1’er yüzeyinden rastgele seçilerek toplandı.

Örnek alınacak bölgede supragingival plak, scaler (U 15/30, Hu Friedy, USA) yardımıyla nazikçe uzaklaştırıldıktan sonra bukkal sulkusa pamuk rulolar yerleştirilerek tükürük kontaminasyonu engellendi. Diş irritasyon yaratılmayacak şekilde hava spreyiyle hafifçe kurutularak izole edildi. Bu amaçla özel olarak üretilmiş kağıt stripler (Periopaper®, Proflow. Incorporated 1500 New Horizons Blvd. Hewlett, New York, USA) kullanıldı (189). Ölçümler kağıt striplerin gingival oluk veya

periodontal cep içine minimum direnç hissedilen noktaya kadar ilerletilmesi ile gerçekleşti (227). Kontamine olan örnekler çalışmaya dahil edilmedi.

Şekil 3.1. Dişlerin pamuk rulo ve hava spreyi ile kurutulması ve kağıt strip ile DOS alınması

Diş Eti Oluğu Sıvısı Hacminin Hesaplanması



Bu amaçla periotron cihazı kullanıldı (228). Kağıt stripler oluk/cep içerisinde 30 saniye bekletildikten sonra DOS hacmini ölçmek için önceden kalibre edilmiş Periotron® 8010 (Oraflow Inc., New York, USA) cihazında periotron skorları ölçüldü. DOS örnekleme yapılırken toplanan hacmin çok küçük miktarlarda olması buharlaşma sebebiyle DOS hacminin azalmasına, DOS hacmi/içeriği açısından hatalı sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (229, 230). Bu limitasyonu en aza indirmek için; periotron cihazı ile DOS hacmi ölçüldükten hemen sonra kağıt filtreler, 1.5 ml'lik steril kapaklı eppendorf tüplere koyularak tüp içeriğinin dış ortamdan izole olması sağlandı. Daha sonra kağıt stripler analizin yapılacağı güne kadar -80°C'de saklandı.

Elde edilen periotron skorlarının μ l'ye çevrilmesi için periotron kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. 0-0,5 μ l aralığında 20 nl'lik artışlarla, 0,5-1,5 μ l aralığında 10 nl'lik artışlarla serum fizyolojik emdirilmiş periopaperlar peritron cihazında okutuldu. Standardizasyonun sağlanabilmesi için Hamilton #701 şırıngası (Hamilton Microliter Syringe, Reno, Nevada, USA) kullanıldı. Ölçüm her bir değer için 3 defa tekrarlandı ve her değer için ortalaması alınarak kaydedildi (231).



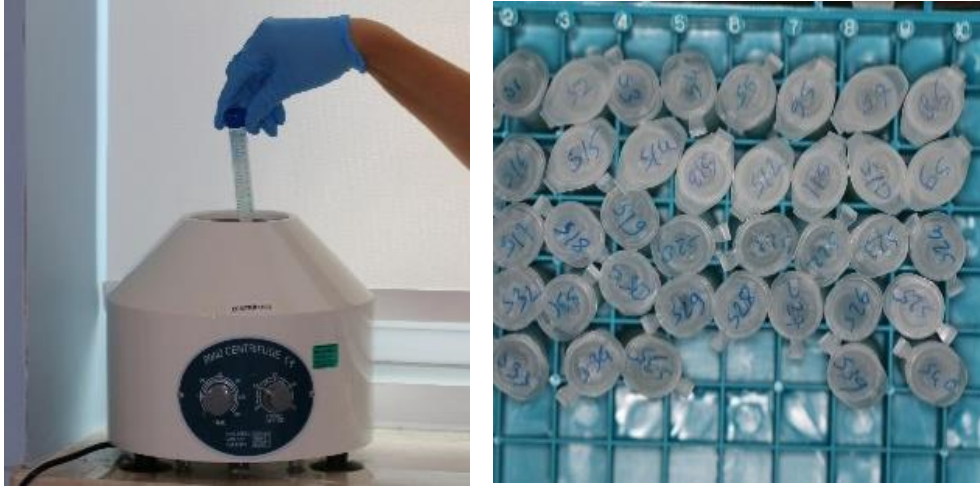
Şekil 3.2. Hamilton şıngası

3.4.2 Tükürük Örneklerinin Elde Edilmesi

Tükürük örnekleri sabah saatlerinde alındı. Hastalardan örneklerin alınacağı saatten 1 saat öncesine kadar hiçbir şey yememeleri ve içmemeleri, dişlerini fırçalamamaları ve sakız çiğnememeleri istendi. Hastalar başlarını öne eğerek 5 dakika boyunca en az 5 ml olacak şekilde tükürüklerini ağız tabanında biriktirdi (232, 233). Toplanan tükürük örnekleri falkon tüplere aktararak 18-25 °C 1500 devir/dk/hızda 10 dakika boyunca santrifüj edildi (234). Santrifüj sonrası elde edilen heterojen karışımın üstte yer alan berrak sıvı kısmı pastör pipetler ile 1,5 ml'lik eppendorf tüplere taşındı ve -80 °C'de analiz gününe kadar saklandı.



Şekil 3.3. Tükürük örneklerinin alınması için kullanılan falkon tüp, eppendorf ve pastör pipet



Şekil 3.4. Tükürük örneklerinin, santrifüj edildiği santrifüj cihazı ve örneklerin depolanması

3.4.3 Serum Örneklerinin Elde Edilmesi

Çalışmamıza katılan bireylerden standardizasyon amacı ile 8 ml venöz kan, antekübital fossadan hasta oturur pozisyonda iken alındı. Akrilik jel katkılı vakumlu kan tüplerine (BD Vacutainer® SST™ II Advance Serum Separatör Tüp) alınan örnekler 30 dk dinlendirildikten sonra 18-25 °C’ de 1500 devir/dk/ hızda 10 dk süre ile santrifüj edildi (235). Elde edilen serum, pastor pipetlerle eppendorf tüplere aktarılarak analiz gününe kadar -80 °C saklandı (227, 236).



Şekil 3.5. Kan örneklerinin alınması, santrifüj edilmesi, serum elde edilmesi ve depolanması

3.5 Laboratuvar İşlemleri

DOS, tükürük ve serum örneklerinden tespit edilen MMP-9, IL-36 γ , IL-17 ve IL-38 seviyelerinin tayini enzim bağılı immün absorban yöntem “enzyme-linked immuno sorbent assay” (9) ile ticari ELİSA kitleri (USCN, Wuhan, Business.Co.,LTd) kullanılarak, Ankara ALGEN Diagnostik Medikal LTD. ŞTİ. Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı’nda gerçekleştirildi.

3.5.1 DOS MMP-9, IL-17, IL-36 γ ve IL-38 Düzeylerinin Belirlenmesi

Analizden 1 gün önce DOS örnekleri oda sıcaklığında çözölmeye bırakıldı. Analiz günü DOS içeren kağıt stripler üzerine 220 μ l fosfat tamponlayıcı solüsyon “phosphat buffered saline” (PBS, Ph:7,4) eklenip 1 saat kadar bekletildi. Kağıt şeritlerdeki DOS’un fosfat tampona geçişinin (elüsyon) sağlanması için eppendorf santrifüj cihazında (NF 048 Nuve® Microlitre & Haematocrit Centrifuge, Türkiye) eppendorf tüpleri 1.000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Pastor pipet vasıtasıyla eppendorf tüpleri içerisindeki tampon solüsyon alındı.



Şekil 3.6. DOS örneklerinin elüe edildiği PBS ve santrifüj edildiği eppendorf santrifüj cihazı

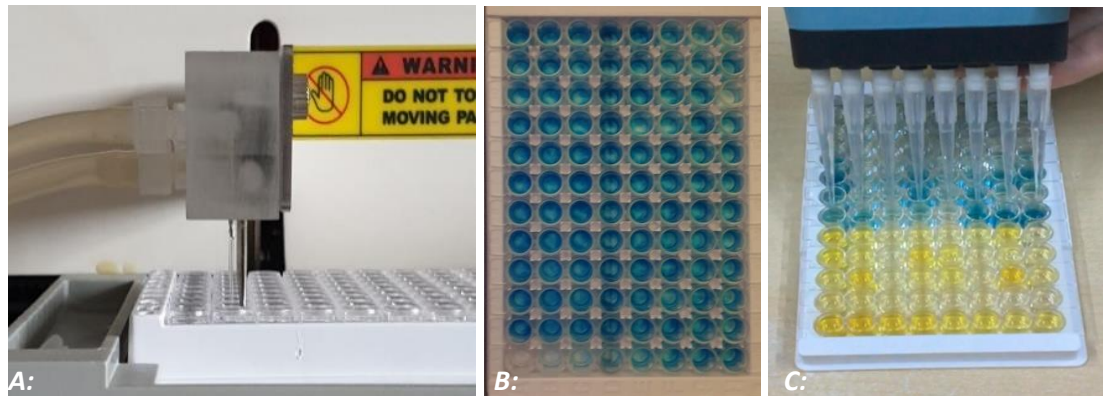
Analizden 1 gün önce standart solüsyonlar ve konjugatlar çözdürölerek analiz günü üretici firmanın reçetesi doğrultusunda hazırlandı. Mikroplakalardaki her kuyucuğa 100'er mikrolitre(μ l) standart solüsyonu ve numune eklendi. Her mikroplakanın üzeri koyu renkli plaka kaplayıcı ile örtöldükten sonra 37°C’de 1 saat karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra mikrokuyucuklardaki sıvılar yıkama olmadan uzaklaştırıldı ve substrat çözeltisi A (Detection Reagent A) eklendi. Mikroplakalar

tekrar 37°C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra mikrolakalar otomatik yıkama cihazında (Combiwash, Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica, Germany) substrat A çözeltisi uzaklaştırıldıktan sonra yıkama solüsyonu (wash solüsyon) ile 3 kez yıkandı.



Şekil 3.7. A:ELİSA mikrokuyucuklarının inkübasyona bırakıldığı fırın ve B.Otomatik yıkama cihazı

Yıkama sonrası kuyucuklara substrat B çözeltisi (Detection Reagent B) eklenerek 37°C’de 30 dakika daha inkübasyona bırakıldı. Bu inkübasyon sonunda tüm mikrolakalar otomatik yıkama cihazında substrat B çözeltisi uzaklaştırılarak yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Yıkama tamamlandıktan sonra her kuyucuğa 90 µl TMB solüsyonu eklenerek 37°C’de 15 dakika inkübasyona uğratıldı. Tüm kuyucuklarda mavi renk gözlemlendikten sonra 50µl stop solüsyonu eklenerek kuyucuklardaki sıvının maviden sarıya döndüğü görüldü.



Şekil 3.7. A:Mikrokuyucukların otomatik yıkama cihazında yıkanması, B:Kuyucukların TMB solüsyonu sonrası mavi renge dönmesi ve C:Stop solüsyonu eklendikten sonra kuyucukların sarı renge dönmesi

Stop solüsyonu ekledikten sonra 10 dakika içerisinde bir ELİSA mikroparka okuyucu (Alisei Q.S, SEAC Next Level, Italy) kullanılarak 450 nanometre dalga boyunda okutuldu. Standart değerlerin optik okuması sonrası elde edilen verilere göre standart eğri oluşturuldu. Okunan değerler MMP-9 (ng/ml) IL-17 (pg/ml), IL-36γ (pg/ml) ve IL-38 (pg/ml), olarak verildi.

3.5.2 DOS Konsantrasyon ve Total Miktar Değerlerinin Hesaplanması

DOS sitokin düzeylerinin ELİSA ile optik okuyucuda okutulması sonucunda sunulan değerler pg/ml cinsinden verilmiştir. Bu sonuç 30 sn boyunca DOS emdirilmiş bir kağıt stripin 1ml PBS’de çözündürülmüş hacmine denk gelmektedir. DOS konsantrasyonu için kullanılan formül şeklindeki gibidir:

$$DOS\ Kons = \frac{DOS\ Total\ Miktar}{DOS\ Hacmi} = pg/\mu l$$

Yani DOS konsantrasyon değerlerini hesaplayabilmek için 30sn’de toplanan total sitokin miktarının kağıt stripin emdiği DOS hacmine oranı bulunmalıdır. Bu sebeple öncelikle DOS total miktarı hesaplandı. ELİSA’dan elde edilen sonuçlar ml cinsinden verilmiştir. Ancak stripler standart olarak 200μl PBS’de çözündürüldüğü için verilen sonuçlar 0,2 ile çarpılmalıdır. Bu sonuç DOS total miktarına(pg) tekabül eder. Elde edilen total miktar değerleri, periotron cihazında okutulan değerlerin standart eğri üzerinde karşılık geldiği DOS hacmine bölündüğünde ise DOS konsantrasyon değerleri elde edilir (191).

$$DOS\ Kons = \frac{ELİSA\ Değeri(\frac{pg}{ml}) \times 0,2}{DOS\ Hacmi} = pg/\mu l$$

Bu çalışmada; 1 strip örneğinden 2 sitokin analiz edildiği için 1 sitokin için kullanılan PBS hacmi 0,1ml idi. Bu yüzden ELİSA’da okutulan her değer 0,1 ile çarpılarak DOS total miktarı hesaplandı.

3.5.3 Tükürük MMP-9, IL-17, IL-36 γ ve IL-38 Düzeylerinin Belirlenmesi

Her kitin standart, konjugat solüsyonları ve mikropalakaları analiz gününden 1 gün önce oda sıcaklığına bırakılarak çözünmesi sağlandı. Analiz günü üretici firmanın önerdiği reçetesi doğrultusunda standart ve konjugat solüsyonlar hazırlandı. Tükürük numuneleri ön işlem uygulanmadan doğrudan kullanıldı. Mikrokuyucuklara standart solüsyon ve tükürük numunesinden 100'er μ l pipetlendi. Her kit için aynı işlem yapıldıktan sonra mikropalakalar 37°C'de 1 saat karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvılar uzaklaştırıldı ve her mikropalakaya kendi konjugat A solüsyonu eklendi. Tekrar 37°C'de 1 saat karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda otomatik yıkama cihazında konjugat A solüsyonu kuyucuklardan çekilerek yıkama solüsyonu ile 3 kez otomatik yıkama yapıldı. Daha sonra kuyucuklara konjugat B solüsyonu eklenerek 37°C'de 30 dakikalık karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon tamamlandıktan sonra otomatik yıkama cihazında konjugat B solüsyonu uzaklaştırılarak yıkama solüsyonu ile 5 kez otomatik yıkama yapıldı. Yıkama sonunda kuyucuklara 90 μ l TMB solüsyonu eklenerek 15 dakika 37 °C karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda solüsyonun tüm kuyucuklarda mavi renge döndüğü gözlemlendi. Daha sonra 50 μ l stop solüsyonu eklenerek kuyucuklardaki solüsyonun maviden sarıya dönüşü izlendi. Sarı renk oluşumundan sonra 10 dakika içinde bir ELİSA mikropalaka okuyucu (Alisei Q.S, SEAC Next Level, Italy) kullanılarak 450 nm'de tüm mikropalakalar okutuldu. Standart değerlerin optik okuması sonrası elde edilen verilere göre standart eğri oluşturularak tükürük konsantrasyon miktarları Okunan değerler MMP-9 (ng/ml) IL-17 (pg/ml), IL-36 γ (pg/ml) ve IL-38 (pg/ml), olarak verildi

Serum MMP-9, IL-17, IL-36 γ ve IL-38 Düzeylerinin Belirlenmesi

Kullanılacak kitlerin standart ve konjugat solüsyonları mikropalakaları ile birlikte analiz gününden 1 gün önce oda sıcaklığına getirilerek çözündürüldü. Aynı şekilde serum numuneleri de analizden 1 gün önce çözünmeye bırakıldı. Analiz günü üretici firmanın tavsiyesi doğrultusunda standart ve konjugat solüsyonlar hazırlandı. Serum numuneleri ön işleme tabi tutulmadı. Her kit için tüm mikrokuyucuklara kendi standart solüsyonu ve serum numunesi 100 μ l olacak şekilde pipetlendi. Pipetlemeden sonra mikropalakaların üzeri örtülerek 37°C'de 1 saat karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvılar yıkama yapılmadan uzaklaştırıldı ve her

mikroplakaya kendi konjugat A (Detection-ReagentA) solüsyonu eklendi. Tekrar 37°C’de 1 saat karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda otomatik yıkama cihazında konjugat A solüsyonu kuyucuklardan çekilerek yıkama solüsyonu ile 3 kez otomatik yıkama yapıldı. Daha sonra kuyucuklara konjugat B (Detection-Reagent B) solüsyonu eklenerek 37°C’de 30 dakikalık karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon tamamlandıktan sonra otomatik yıkama cihazında konjugat B solüsyonu uzaklaştırılarak kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 5 kez otomatik yıkandı. Yıkama sonunda kuyucuklara 90 µl TMB solüsyonu eklenerek 15 dakika 37 °C karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklarda solüsyonun maviye döndüğü gözlemlendi. Daha sonra 50 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu ve kuyucuklardaki solüsyonun maviden sarıya dönüşü izlendi. Sarı renk oluşumundan sonra 10 dakika içinde bir ELİSA mikroplaka okuyucu (Alisei Q.S, SEAC Next Level, Italy) kullanılarak 450 nm’de tüm mikroplakalar okutuldu. Standart değerlerin optik okuması sonrası elde edilen verilere göre standart eğri oluşturularak serum konsantrasyon miktarları IL-17 (pg/ml), IL-38 (pg/ml), IL-36γ (pg/ml) ve MMP-9 (ng/ml) olarak verildi.

3.6 İstatistiksel Analiz

Sağlıklı, gingivitis ve periodontitisli gruplar için yaş, cinsiyet, klinik parametreler (Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK) DOS hacmi, sitokin (IL-17/IL-36γ/IL-38) ve enzim (MMP-9) miktarları bakımından farklılıklar ve ilişkiler istatistiksel analizler yardımıyla incelendi. Tanımlayıcı istatistikler; frekans, yüzde, ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleri ile sunuldu. Verilerin normal dağılım varsayımı Shapiro Wilk W testi ile kontrol edildi. Kategorik değişkenlerin analizinde Pearson ki-kare(χ^2) ve Fisher’s Exact test kullanıldı. Çalışma gruplarının klinik ve biyokimyasal parametrelerinin parametrik olmayan karşılaştırmasında Kruskal-Wallis testi kullanılırken, anlamlı çıkan durumlar için post-hoc testlerde Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Hastaların klinik ve biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyonlar Spearman’s Rho(r) korelasyon katsayısı ile değerlendirildi. Analizler SPSS 23.0 paket programı ((IBM Corp., Armonk, NY)) kullanılarak yapıldı. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Güç Analizi

Araştırmanın örneklem hesaplanması G*Power 3.1.9.2 programından yararlanılarak yapılmıştır. Etki büyüklüğü 0.36, $\alpha=0.05$ ve %80 güç kabul edilerek örneklem büyüklüğü toplam 78 olarak hesaplandı. Varyansların homojen olmaması ve normal dağılıma uygun olmamadan dolayı örneklem sayısı %10' artırılarak toplam örneklem sayısı 86 olarak belirlendi. 3 grup olduğu için her gruba düşen örneklem sayısı eşit olarak düşünüldüğünde bir grupta minimum $n=29$ örneklem olması uygun bulundu bu doğrultuda çalışmaya her grup için $n=30$ olmak üzere 90 hasta dahil edildi.



4.BULGULAR

4.1 Demografik Bulgular

Çalışmaya 58 kadın (%63,3) 32 erkek (%36,7) toplam 90 birey katıldı. Katılımcıların yaş dağılımı 18 ile 63 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları $31,97 \pm 11,2$ 'dir. Sağlıklı gruba 21 kadın (%70) 9 erkek (%30) birey dâhil edildi. Katılımcıların yaşları 18 ile 45 arasında değişkenlik gösterdi ve yaş ortalamaları $27,3 \pm 6,65$ olarak hesaplandı. Gingivitis grubuna 17 kadın (%56,6) 13 erkek (%43,4) birey dâhil edildi. Katılımcıların yaşları 19 ile 43 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları $25,6 \pm 6,95$ olarak hesaplandı. Periodontitis grubuna ise 20 kadın (%66,6) 10 erkek (%33,4) birey dâhil edildi. Katılımcıların yaşları 24 ile 63 arasında değişkenlik gösterdi ve yaş ortalamaları $42,9 \pm 10,3$ olarak hesaplandı. Yaş ortalamaları bakımından sağlıklı ve gingivitis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Ancak periodontitis grubu ile sağlıklı ve gingivitis grupları arasında yaş dağılımı bakımından sırasıyla istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,001$). P1, P2, P3 grubu yaş ve cinsiyet bakımından incelendiğinde; gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmezken sağlıklı ve gingivitis grupları ile kıyaslandığında tüm periodontitis gruplarında bireylerin yaş ortalaması istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu ($p < 0,001$).

Cinsiyet dağılımı bakımından ise herhangi bir grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0,05$). Tüm gruplara ait demografik veriler **Tablo 4.1**'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Tüm Grupların Demografik Özellikleri

Demografik veriler	Sağlıklı Kontrol (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis (n:30)	p
Yaş (yıl)				
<i>Ort±SS</i>	27,33±6,65	25,63±6,95	42,93±10,31	<0,001 ¹
<i>Medyan(IQR)</i>	27(22-30)	23(21-26)	43,5(37-51)	
Cinsiyet, n(%)				
Kadın	21(70)	17(56,7)	20(66,7)	0,532 ²
Erkek	9(30)	13(43,3)	10(33,3)	

¹Kruskal-Wallis test kullanılmış ve post hoc ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

²Fisher's Exact test kullanılmıştır. Yatay yönde farklı işaretler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade eder.

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p < 0,05$

4.2 Klinik Bulgular

4.2.1 Gruplar Arası Tüm Ağız Klinik Periodontal Parametreler

Çalışma gruplarına ait tüm klinik periodontal parametreler (PI, GI, SCD, KAS, SK%) parametreler için sağlıklı ve periodontitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ve periodontitis grubunda daha yüksektir ($p<0,001$).

Sağlıklı ve periodontitis grubu arasında tüm klinik parametreler için istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır ($p<0,001$). Sağlıklı ve gingivitis grupları karşılaştırıldığında PI, GI ve SK(%) değerleri gingivitis grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek izlendi. Ancak SCD ve KAS açısından anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$). Gingivitis ve periodontitis grupları kıyaslandığında ise GI hariç diğer klinik parametrelerin periodontitis grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edildi. ($p<0,001$) Çalışma gruplarına ait tüm ağız klinik bulguların gruplar arası karşılaştırmaları **Tablo 4.2**'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Çalışma Gruplarının Klinik Özellikleri

Klinik Parametre/Grup	Sağlıklı Kontrol (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis (n:30)	p
PI				
<i>Ort±SS</i>	0,29±0,23	0,63±0,34*	1,44±0,64*†	<0,001¹
<i>Medyan(IQR)</i>	0,22(0,14-0,42)	0,65(0,39-0,8)	1,32(1,04-1,78)	
GI				
<i>Ort±SS</i>	0,17±0,11	0,84±1,01*	1,01±0,39*	<0,001¹
<i>Medyan(IQR)</i>	0,15(0,1-0,19)	0,64(0,52-0,88)	0,92(0,7-1,33)	
SCD (mm)				
<i>Ort±SS</i>	2,08±0,33	2,22±0,15	3,37±0,55*†	<0,001¹
<i>Medyan(IQR)</i>	2,04(1,94-2,2)	2,2(2,08-2,32)	3,29(2,93-3,85)	
KAS (mm)				
<i>Ort±SS</i>	2,1±0,33	2,22±0,15	3,48±0,59*†	<0,001¹
<i>Medyan(IQR)</i>	2,09(1,94-2,21)	2,24(2,08-2,32)	3,42(2,96-4,03)	
SK (%)				
<i>Ort±SS</i>	6,11±2,87	30,33±15,77*	53,29±24,41*†	<0,001¹
<i>Medyan(IQR)</i>	6,54(3,19-9)	26,3(19-36,9)	49,45(32-68)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$ †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$

4.2.2.Periodontitis Grupları Arası Tüm Ağız Klinik Periodontal Parametreler

Periodontal hastalık düzeyini yansıtan 3 periodontitis alt grubu ile sağlıklı ve gingivitis gruplarının tüm ağız klinik periodontal parametrelerinin karşılaştırılması demografik özellikleriyle beraber **Tablo 4.3**'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre periodontitis evreleri kendi arasında karşılaştırıldığında tüm ağız klinik parametrelerin hiçbirinde anlamlı fark tespit edilemedi. Ancak tüm periodontitis grupları sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında klinik parametrelerin her biri sağlıklı grupta anlamlı düzeyde düşük izlendi ($p<0,001$). Her bir periodontitis grubu gingivitis grubu ile kıyaslandığında ise GI hariç tüm parametreler periodontitis gruplarında anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,001$).

Tablo 4.3.Farklı Periodontitis Evrelerine Ait Demografik ve Tüm Ağız Klinik Periodontal Veriler

Demografik Veriler	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis			“P”
			P1	P2	P3	
Yaş (yıl)						
Ort±SS	27,33±6,65	25,63±6,95	40,67±13,61*†	45,27±9,48*†	42,4±8,1*†	<,001 ¹
Cinsiyet,n(%)						
Kadın	21(70)	17(56,7)	6(66,7)	8(72,7)	6(60)	0,819 ²
Erkek	9(30)	13(43,3)	3(33,3)	3(27,3)	4(40)	
Klinik Parametreler						
PI						
Ort±SS	0,29±0,23	0,63±0,34*	1,27±0,5*†	1,38±0,49*†	1,65±0,86*†	<,001 ¹
Medyan(IQR)	0,22(0,14-0,42)	0,65(0,39-0,8)	1,19(0,86-1,76)	1,2(1,04-1,82)	1,5(1,16-2,19)	
GI						
Ort±SS	0,17±0,11	0,84±1,01*	1,18±0,44*	0,84±0,27*	1,06±0,42*	<,001 ¹
Medyan(IQR)	0,15(0,1-0,19)	0,64(0,52-0,88)	1,17(0,82-1,36)	0,9(0,63-1,07)	0,83(0,71-1,46)	
SCD (mm)						
Ort±SS	2,08±0,33	2,22±0,15	3,29±0,5*†	3,18±0,57*†	3,64±0,51*†	<,001 ¹
Medyan(IQR)	2,04(1,94-2,2)	2,2(2,08-2,32)	3,19(3,05-3,34)	2,96(2,72-3,49)	3,61(3,27-4,17)	
KAS (mm)						
Ort±SS	2,1±0,33	2,22±0,15	3,35±0,5*†	3,28±0,57*†	3,81±0,58*†	<,001 ¹
Medyan(IQR)	2,09(1,94-2,21)	2,24(2,08-2,32)	3,34(3,05-3,47)	2,99(2,92-3,59)	3,64(3,51-4,19)	
SK (%)						
Ort±SS	6,11±2,87	30,33±15,77*	52,81±22,2*	54,57±22,24*	52,3±30,48*	<,001 ¹
Medyan(IQR)	6,54(3,19-9)	26,3(19-36,9)	51(41,6-64)	55,6(38,2-65,5)	36(28-78)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık, †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, δ:P1 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, χ: P2 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık ($p<0,05$)

4.2.3 Örneklenen Dişlere Ait Klinik Periodontal Parametreler

Sağlıklı, gingivitis, periodontitis gruplarından DOS örneklerinin (D1,D2) alındığı dişlerin klinik parametre ortalama $\pm$ Ss ve medyan(Q1-O3) değerleri **Tablo 4.4'**de verilmiştir. Buna göre ilk örneğin alındığı dişler için; S grubunun PI değerlerinin tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu görüldü. G ile P1 arasında fark izlenmezken P2 ve P3 grubu ile tüm gruplar arasında anlamlı düzeyde fark söz konusudur ve G grubunda PI daha düşüktür. P1,P2,P3 arasında ise fark olmamakla beraber PI skorları P3'te en yüksektir.

Örnek alından dişlerin GI ve SK(%)'nin ortalama değerleri değerlendirildiğinde; S grubunun tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu görülmüştür. Fakat diğer gruplar arasında fark yoktur. ($p>0,05$)

Sondlanabilir cep derinliği ve KAS değerleri incelendiğinde; S ve G grupları arasında istatistiksel açıdan fark olmamakla beraber P1, P2 ve P3'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük skorlar tespit edildi ($p<0,001$). Ancak P1,P2,P3 grupları arasında istatistiksel olarak fark olmayıp P3 grubunda en yüksek skorlar kaydedildi.

DOS2 örneklerinin alındığı dişlere ait ortalama klinik parametreler yine **Tablo 4.4.'**de verilmiştir. Gruplar arası PI değerleri istatistiksel olarak incelendiğinde S grubunda tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük skorlar kaydedildi ancak G, P1, P2 ve P3 grupları arasında anlamlı fark yoktu. En yüksek PI yine P3 grubunda ölçüldü.

Gingival indeks ve SK(%) değerleri D1 grubuna ait GI ve SK(%) ile benzer şekilde kaydedildi. S grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve daha düşük değerler ölçüldü. Diğer gruplar arasında fark saptanmadı.

Sondlanabilir cep derinliği ve KAS parametreleri için ise S ve G grubunda anlamlı fark olmamakla beraber her iki grup ile P1, P2 ve P3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark olup daha düşük değerler hesaplandı. Periodontitis grupları arasında ise fark yoktu.

Tablo 4.4. Örneklenen Dişlere Ait Ortalama Klinik Periodontal Parametreler

Örneklenen Diş No:1	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis			“p”
			P1(n:9)	P2 (n:11)	P3 (n:10)	
PI (P1), ort±SS	0	1,37±0,67*	1,44±0,88*	2,18±1,16*†	2,20±0,91*†	<0,001 ¹
PI, Medyan(IQR)	0	1(1-2)	1(1-2)	3(1-3)	2(2-3)	
GI (G1), ort±SS	0	1,53±0,51*	1,66±0,5*	1,72±0,46*	1,80±0,42*	<0,001 ¹
GI, Medyan(IQR)	0	2(1-3)	2(1-3)	2(1-2)	2(2-2)	
SCD (SCD1)(mm), ort±Ss	1,97±0,56	2,53±0,57*	5,0±0,5*†	5,73±1,01*†	6,1±0,57*†	<0,001 ¹
SCD, Medyan(IQR)	2(2-2)	2,5(2-3)	5(5-5)	5(5-6)	6(6-6)	
KAS (KAS1)(mm), ort±Ss	1,97±0,56	2,50±0,50*	5,0±0,0*†	5,82±0,98*†	6,0±0,67*†	<0,001 ¹
KAS, Medyan(IQR)	2(2-2)	2,5(2-3)	5(5-5)	6(5-6)	6(6-6)	
SK (SK1)(%), ort±Ss	0	52,33*	66,6*	72,73*	80*	<0,001 ¹
SK, Medyan(IQR)	0	100(0-100)	100(0-100)	100(0-100)	100(0-100)	
Örneklenen Diş No:2	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis			“p”
			P1(n:9)	P2 (n:11)	P3 (n:10)	
PI, (P2), ort±SS	0	1,23±0,63*	1,33±0,86*	1,81±1,40*	1,90±0,87*	<0,001 ¹
PI, Medyan(IQR)	0	1(1-2)	1(1-2)	3(0-3)	2(1-3)	
GI (G2), ort±SS	0	1,57±0,50*	1,66±0,5*	1,72±0,27*	1,89±0,31*	<0,001 ¹
GI, Medyan(IQR)	0	2(1-2)	2(1-2)	2(1-2)	2(2-3)	
SCD (SCD2)(mm),ort±Ss	1,9±0,71	2,47±0,80	5,11±0,33*†	6,0±0,77*†	6,1±0,99*†	<0,001 ¹
SCD, Medyan(IQR)	2(1-2)	2(2-3)	5(5-5)	6(5-7)	6(5-7)	
KAS (KAS2)(mm), ort±Ss	1,9±0,71	2,4±0,56	5,11±0,31*†	5,36±0,80*†	6,40±1,07*†	<0,001 ¹
KAS, Medyan(IQR)	2(1-2)	2(2-3)	5(5-5)	7(6-7)	6(6-7)	
SK (SK2) (%), ort±SS	0	70*	66,6*	72,72*	80*	<0,001 ¹
SK, Medyan(IQR)	0	100(0-100)	100(0-100)	100(0-100)	100(0-100)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık, †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, δ:P1 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, χ: P2 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık ($p<0,05$)

4.3. Biyokimyasal Bulgular

4.3.1. Gruplar Arası Biyokimyasal Bulguların Karşılaştırılması

DOS Hacim Bulgularının Karşılaştırılması

Yapılan istatistiksel değerlendirmede DOS hacimlerinin (D1,D2); gingivitis ve periodontitis grubunda sağlıklı gruba kıyasla, periodontitis grubunda da gingivitise göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,001$).

P1, P2, P3 gruplarına bakıldığında; P1 grubu ile gingivitis grubu DOS hacmi

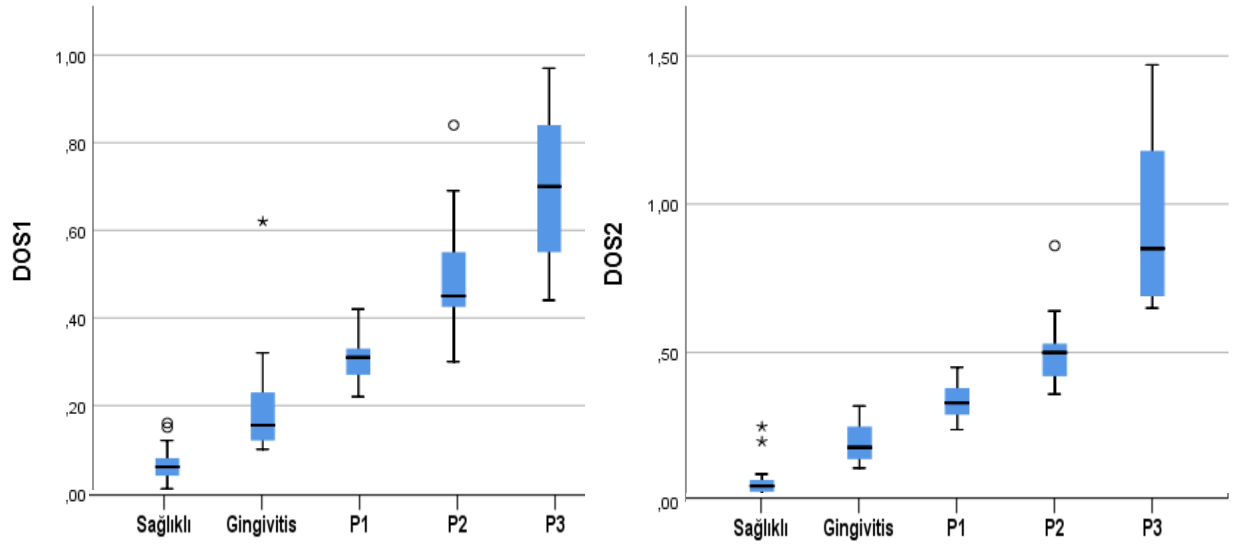
bakımından istatistiksel olarak benzerlik gösterse de DOS miktarı P1 grubunda daha yüksek bulundu ($p>0,05$). P1, P2 ve P3 grubu sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek hacim izlendi ($p<0,001$). DOS hacmi P3 grubunda en yüksek değerlerde görülürken gruplar arası istatistiksel fark görülmedi ($p>0,05$).

Tablo 4.5: DOS Hacim Bulgularının Gruplar Arası Karşılaştırılması

DOS Hacmi	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis (n:30)	"p"
D1(μl)				
Ort±SS	0,06±0,04	0,19±0,1*	0,51±0,21*†	<,001
Medyan(IQR)	0,06(0,04-0,08)	0,16(0,12-0,23)	0,45(0,33-0,64)	
D2(μl)				
Ort±SS	0,06±0,05	0,19±0,07*	0,6±0,31*†	<,001
Medyan(IQR)	0,05(0,03-0,07)	0,18(0,14-0,25)	0,51(0,38-0,77)	

DOS Hacmi	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis (n:30)			"p"
			P1(n:9)	P2 (n:11)	P3 (n:10)	
D1(μl)						
Ort±SS	0,06±0,04	0,19±0,1*	0,31±0,06*	0,51±0,15*†	0,7±0,19*†	<,001
Medyan(IQR)	0,06(0,04-0,08)	0,16(0,12-0,23)	0,31(0,27-0,33)	0,45(0,42-0,55)	0,7(0,55-0,84)	
D2(μl)						
Ort±SS	0,06±0,05	0,19±0,07*	0,33±0,07*	0,51±0,14*†	0,94±0,28*†	<,001
Medyan(IQR)	0,05(0,03-0,07)	0,18(0,14-0,25)	0,33(0,29-0,38)	0,5(0,41-0,53)	0,85(0,69-1,18)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık, †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, δ:P1 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, γ: P2 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık ($p<0,05$)



Şekil 4.1.DOS Hacimlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

DOS Total Miktar Düzeylerinin Karşılaştırılması

DOS total miktarları açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında MMP-9, IL-17, IL-36γ ve IL-38 seviyelerinin S ve G grubunda P grubuna kıyasla sırasıyla istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde düşük olduğu izlendi. S ve G grubu kıyaslandığında tüm sitokin seviyelerinin G grubunda anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,001$). P grubunda da G grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek miktarlar ölçüldü ($p<0,001$).

Tablo 4.6: DOS Total Miktar Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

DOS Total Mikt. /Grup	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis (n:30)	"p"
MMP-9(ng/30sn)				
Ort±SS	0,45±0,28	0,78±0,33*	1,34±0,53*†	<0,001
Medyan(IQR)	0,42(0,21-0,71)	8,82(0,43-0,95)	1,30(1,0-1,92)	
IL-17(pg/30sn)				
Ort±SS	2,65±0,35	3,44±0,66*	5,29±1,19*†	<0,001
Medyan(IQR)	2,63(2,46-2,84)	3,29(3,02-3,62)	5,3(4,39-6,03)	
IL-36γ(pg/30sn)				
Ort±SS	2,94±1,35	4,63±2,14*	6,73±2,92*†	<0,001
Medyan(IQR)	2,57(2,14-3,46)	3,87(2,64-6,16)	6,08(4,75-8,82)	
IL-38(pg/30sn)				
Ort±SS	0,43±0,08	0,54±0,17*	0,82±0,295*†	<0,001
Medyan(IQR)	0,41(0,36-0,46)	0,54(0,42-0,61)	0,82(0,5-1,07)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$ †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$.

DOS Konsantrasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

DOS konsantrasyon değerleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında MMP-9, IL-17 IL-36 γ ve IL-38 seviyeleri S ve G grubunda P grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde daha yüksek izlendi ($p<0,001$). S ve G grubu kıyaslandığında ise tüm sitokin seviyeleri S grubunda anlamlı düzeyde daha yüksek tespit edildi ($p<0,001$). Tüm gruplar arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,001$).

Tablo 4.7. DOS Konsantrasyon Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

DOS Konsantrasyon/Grup	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis (n:30)	"p"
MMP-9(ng/μl)				
Ort $\pm$ SS	10,12 $\pm$ 13,93	4,78 $\pm$ 2,62	2,701 $\pm$ 1,09*†	<0,001
Medyan(IQR)	6,6(3,45-11,66)	4,28(2,86-6,73)	2,52(1,85-3,57)	
IL-17(pg/μl)				
Ort $\pm$ SS	54,83 $\pm$ 36,53	20,1 $\pm$ 9,17*	10,16 $\pm$ 3,55*†	<0,001
Medyan(IQR)	51,39(28,89-71)	18,65(13,71-24,24)	10,3(7,25-12,81)	
IL-36γ (pg/μl)				
Ort $\pm$ SS	67,83 $\pm$ 80,83	29,15 $\pm$ 14,89*	14,45 $\pm$ 8,18*†	<0,001
Medyan(IQR)	44,34(31,2-59,58)	26,76(19,64-32,23)	11,17(8,96-20,97)	
IL-38 (pg/μl)				
Ort $\pm$ SS	9,72 $\pm$ 6,17	3,07 $\pm$ 1,65*	1,58 $\pm$ 0,66*†	<0,001
Medyan(IQR)	8,38(5,73-12,4)	2,65(1,87-4,21)	1,588(1,01-1,98)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$ †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$.

Tükürük Konsantrasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

Tükürük MMP-9, IL-17 IL-36 γ ve IL-38 konsantrasyon değerleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; S ve P grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmakla beraber P grubunda daha yüksek sitokin seviyeleri izlendi ($p<0,001$). S ve G grupları kıyaslandığında yalnızca IL-17 konsantrasyon değeri için anlamlı fark bulunmaktadır ve G grubunda daha yüksektir ($p<0,001$). Diğer parametreler G ve S grubu için benzerdir ($p>0,05$). G ve P grubu MMP-9, IL-17, IL-36 γ ve IL-38 konsantrasyon değerleri açısından incelendiğinde ise konsantrasyon değerleri P grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksektir ($p<0,001$).

Tablo 4.8. Tükürük Konsantrasyon Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Tükürük Kons./Grup	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis (n:30)	"p"
MMP-9(ng/ml)				
Ort±SS	6,95±2,83	9,03±4,42	12,95±4,52*†	<0,001
Medyan(IQR)	6,17(4,46-9,24)	8,21(5,95-10,75)	13,38(9,83-16,39)	
IL-17(pg/ml)				
Ort±SS	9,37±2,85	14,85±8,68*	39,86±19,35*†	<0,001
Medyan(IQR)	8,96(7,46-10,31)	11,87(9,5-17,71)	40,7(23,61-47,67)	
IL-36γ(pg/ml)				
Ort±SS	144,1±78,97	199,36±98,99	409,3±155,25*†	<0,001
Medyan(IQR)	117,54(90-175,29)	177,53(120,7-264,71)	403,68(292,35-561,77)	
IL-38 (pg/ml)				
Ort±SS	5,63±2,48	9,07±6,73	18,77±10,26*†	<0,001
Medyan(IQR)	5,3(3,97-6,92)	7,21(4,42-11,6)	18,4(8,37-27,52)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$ †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$.

Serum Konsantrasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

Serum MMP-9, IL-17, IL-36γ ve IL-38 konsantrasyon değerleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S ve G grubunda sonuçlar benzerdir ($p>0,05$). MMP-9 konsantrasyon değerleri G ve P grubu için incelendiğinde de gruplar arasında fark görülmezken; P grubunda en yüksek S'de en düşük değerler tespit edildi ($p<0,036$). IL-17 IL-36γ ve IL-38 konsantrasyon seviyeleri G ve P grubu için değerlendirildiğinde ise sonuçlar P grubunda istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$).

Tablo 4.9. Serum Konsantrasyon Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Serum Konsantrasyon/Grup	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis (n:30)	"p"
MMP-9 (pg/ml)				
Ort±SS	0,24±0,11	0,29±0,13	0,32±0,14*	0,036
Medyan(IQR)	0,2(0,15-0,29)	0,27(0,21-0,35)	0,29(0,21-0,4)	
IL-17 (pg/ml)				
Ort±SS	13,95±5,67	20,94±11,01	47,68±24,04*†	<0,05
Medyan(IQR)	12,16(10,67-14,67)	15,8(12,44-31,86)	44,71(31,2-61,84)	
IL-36γ (pg/ml)				
Ort±SS	45,91±17,81	51,38±20,21	103,27±45,48*†	<0,05
Medyan(IQR)	47,3(34,78-56,53)	51,33(40,14-67,78)	88,47(64,12-130,63)	
IL-38 (pg/ml)				
Ort±SS	2,91±1,3	4,41±2,36	15,26±9,8*†	<0,05
Medyan(IQR)	2,56(1,87-3,63)	3,34(2,67-6,25)	15,56(6,73-19,37)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$ †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$

4.3.2.Periodontitis Evrelerine Ait Biyokimyasal Bulguların Karşılaştırılması

Periodontitis1, P2 ve P3 grupları ile S ve G gruplarına ait DOS MMP-9, IL-17, IL-36 γ ve IL-38 total miktarları ve konsantrasyon seviyeleri **Tablo 4.9’da**; tükürük ve serum MMP-9, IL-17, IL-36 γ ve IL-38 düzeyleri ise **Tablo 4.10’da** gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Periodontitis Evrelerine Göre DOS Total Miktar ve Konsantrasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

Biyokimyasal Veriler/Grup	Sağlıklı (n:30)	Gingivitis (n:30)	Periodontitis			p
			P1 (n:9)	P2(n:11)	P3(n:10)	
DOS Total Mikt.						
MMP-9(ng/30sn)						
Ort$\pm$SS	0,45 $\pm$ 0,28	0,78 $\pm$ 0,33*	0,81 $\pm$ 0,40*	1,39 $\pm$ 0,4*† δ	1,76 $\pm$ 0,33*† δ	<0,05
Medyan(IQR)	0,42(0,21-0,71)	8,82(0,43-0,95)	7,8(0,48-1,19)	1,28(1,01-1,91)	1,93(1,5-1,95)	
IL-17(pg/30sn)						
Ort$\pm$SS	2,65 $\pm$ 0,35	3,44 $\pm$ 0,66*	4,06 $\pm$ 0,49*	5,33 $\pm$ 0,64*† δ	6,35 $\pm$ 1,07*† δ χ	<0,05
Medyan(IQR)	2,63(2,46-2,84)	3,29(3,02-3,62)	4,24(3,67-4,39)	5,43(5,13-5,88)	6,6(5,62-7,07)	
IL-36γ(pg/30sn)						
Ort$\pm$SS	2,94 $\pm$ 1,35	4,63 $\pm$ 2,14*	4,99 $\pm$ 3,13*	6,89 $\pm$ 2,36*†	8,13 $\pm$ 2,70*† δ	<0,05
Medyan(IQR)	2,57(2,14-3,46)	3,87(2,64-6,16)	3,29(2,72-6,25)	6,29(4,75-8,41)	7,77(5,86-10,07)	
IL-38(pg/30sn)						
Ort$\pm$SS	0,43 $\pm$ 0,08	0,54 $\pm$ 0,17*	0,61 $\pm$ 0,28*	0,88 $\pm$ 0,28*†	0,94 $\pm$ 0,23*† δ	<0,05
Medyan(IQR)	0,41(0,36-0,46)	0,54(0,42-0,61)	0,5(0,45-0,66)	0,83(0,69-1,07)	0,98(0,81-1,10)	
DOS Kons.						
MMP-9(ng/μl)						
Ort$\pm$SS	10,12 $\pm$ 13,93	4,78 $\pm$ 2,62*	2,70 $\pm$ 1,44*†	2,76 $\pm$ 1,08*†	2,7 $\pm$ 0,81*†	<0,05
Medyan(IQR)	6,6(3,45-11,66)	4,28(2,86-6,73)	2,23(1,61-3,42)	2,81(1,86-3,65)	2,54(2,01-3,41)	
IL-17(pg/μl)						
Ort$\pm$SS	54,83 $\pm$ 36,53	20,1 $\pm$ 9,17*	11,82 $\pm$ 4,09*	10,42 $\pm$ 2,82*†	8,39 $\pm$ 3,24*†	<0,05
Medyan(IQR)	51,39(28,89-71)	18,65(13,71-24,24)	11,7(8,15-13,14)	10,76(7,53-12,81)	8,01(5,97-11,18)	
IL-36γ (pg/μl)						
Ort$\pm$SS	67,83 $\pm$ 80,83	29,15 $\pm$ 14,89*	16,78 $\pm$ 11,13*†	14,04 $\pm$ 7,11*†	12,79 $\pm$ 6,37*†	<0,05
Medyan(IQR)	44,34(31,2-59,58)	26,76(19,64-32,23)	9,98(9,39-23,15)	11,60(8,96-23,34)	11,07(6,98-20,44)	
IL-38 (pg/μl)						
Ort$\pm$SS	9,72 $\pm$ 6,17	3,07 $\pm$ 1,65*	1,85 $\pm$ 0,63*	1,67 $\pm$ 0,7*	1,23 $\pm$ 0,53*†	<0,05
Medyan(IQR)	8,38(5,73-12,4)	2,65(1,87-4,21)	1,61(1,32-2,44)	1,66(0,87-2,48)	1,09(0,76-1,76)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık, †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, δ :P1 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, χ : P2 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$

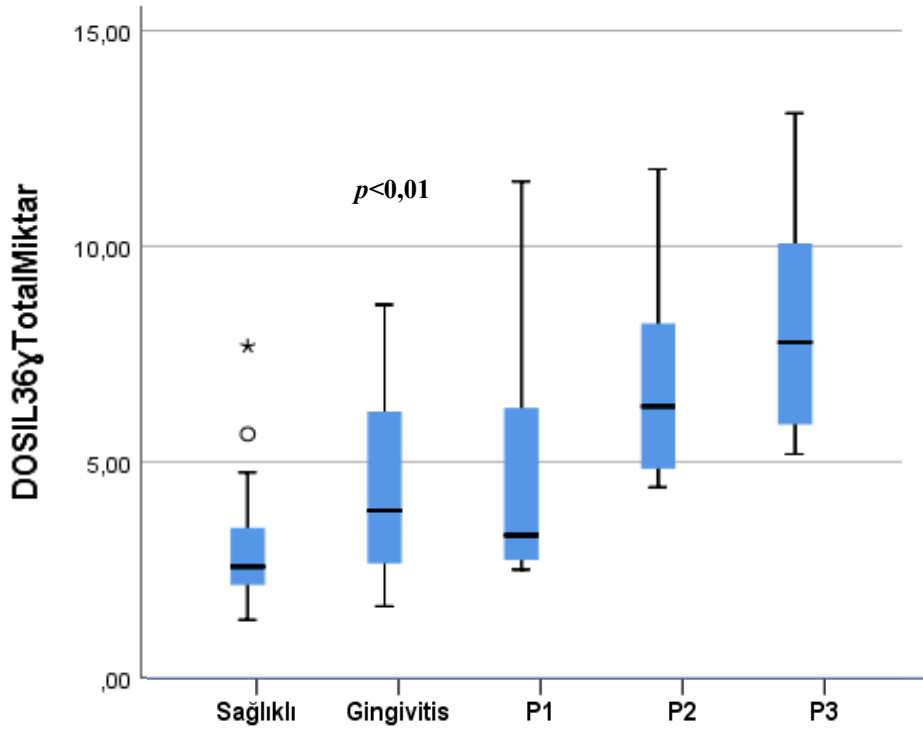
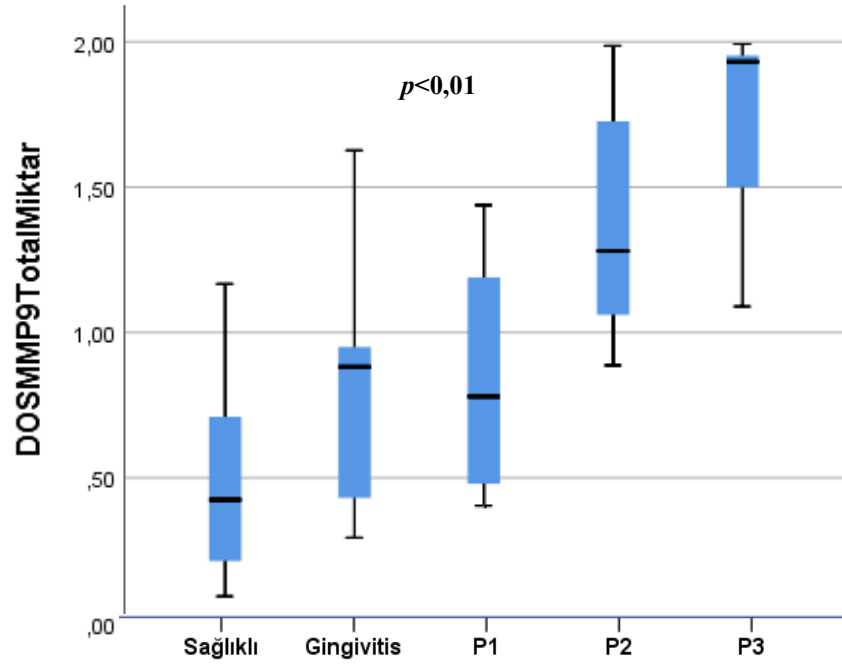
Periodontitis Evrelerine Göre DOS Total Miktar Düzeylerinin Kıyaslanması

DOS MMP-9 total miktarları açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubunda MMP-9 seviyelerinin tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu izlendi ($p<0,05$). G grubu ile P1 grubu arasında fark izlenmezken P2 ve P3 grubu ile G grubu kıyaslandığında MMP-9 total miktarları anlamlı derecede periodontitis gruplarında yüksek görüldü ($p<0,01$). P1, P2 ve P3 grupları arasındaki ilişkiye bakıldığında; P2 ile P3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmezken P1 ile hem P2 hem de P3 arasında anlamlı düzeyde fark izlendi ($p=0,003-0,028$). P2 ve P3 arasında ise önemli bir fark yoktu ve en yüksek MMP-9 düzeyleri P3’de ölçüldü.

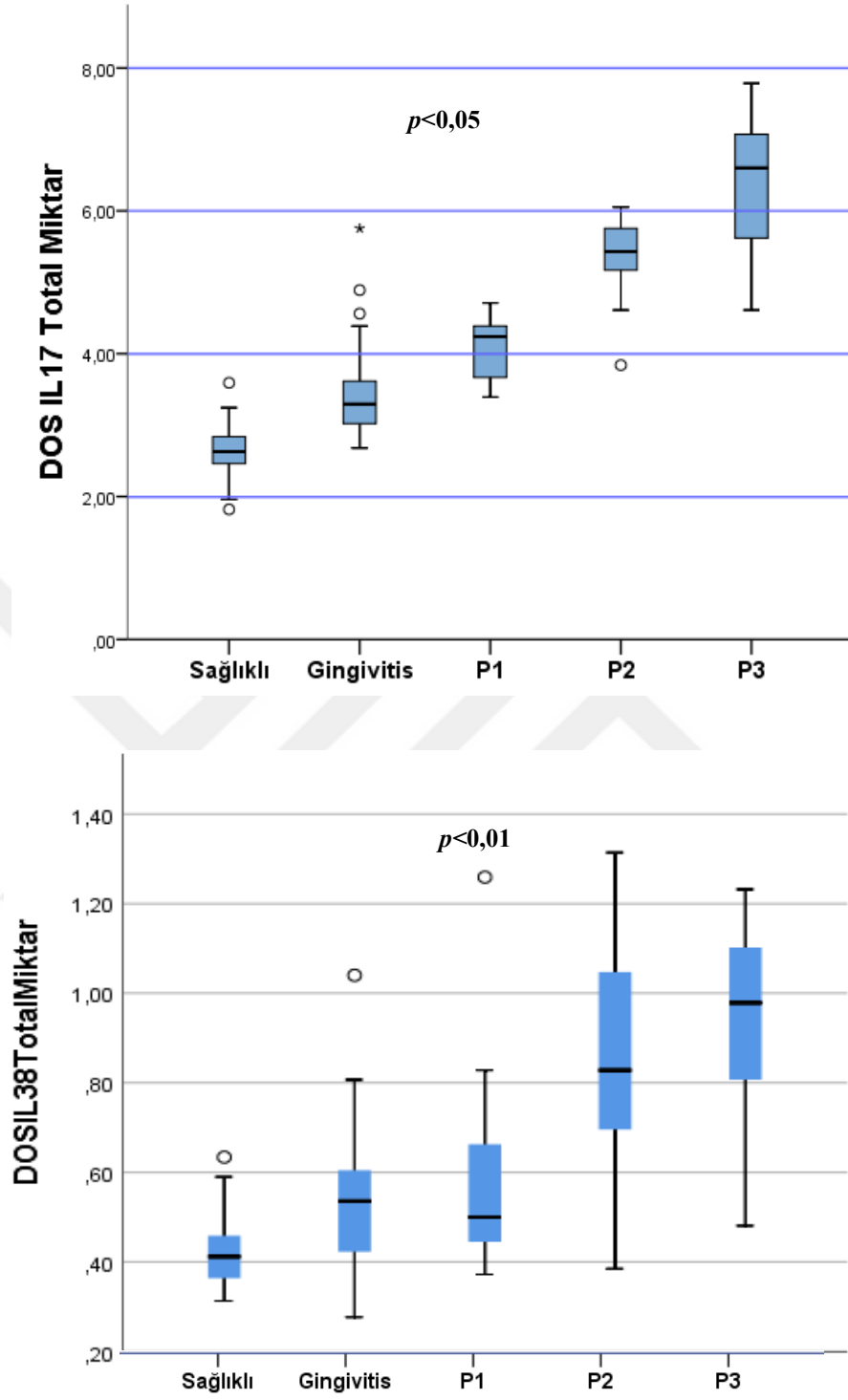
DOS IL-17 total miktarları açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubunda IL-17 seviyelerinin tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Gingivitis ile P2 ve P3 grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark izlendi ($p<0,05$). Gingivitis ile P1 arasında ise sonuçlar benzerdi ($p>0,05$). IL-17 total miktarları periodontitis grupları arasında kıyaslandığında ise P3 grubunda en yüksek sitokin seviyeleri görülürken istatistiksel açıdan tüm periodontitis gruplar arasında da istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edildi ($p<0,01$).

DOS IL-36 γ total miktarları açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubunda IL-36 γ seviyelerinin tüm gruplarda istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$). G ve P1 gruplarında IL-36 γ DOS total miktarları değerlendirildiğinde gruplar arası fark izlenmedi ($p>0,05$). P2 ve P3 grubunda ise IL-36 γ seviyeleri G grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu ($p<0,05$). Periodontitis grupları arasında ise P1 ve P2 arasında fark gözlenmedi fakat P1 ve P3 arasında anlamlı fark tespit edildi.

DOS IL-38 total miktarları açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubunda IL-38 seviyelerinin tüm gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu izlendi ($p<0,05$). P3 grubunda ise DOS IL-38 total miktarının tüm gruplardan istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha yüksek olarak görüldü ($p<0,001$). P1 grubu, G ve P2 grubu ile DOS ortalama IL-38 total miktarları bakımından istatistiksel açıdan benzerdi. Fakat P2 grubu ile G grubu arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p=0,003$). P2 ve P3 grupları arasında ise sonuçlar istatistiksel açıdan benzerdi.



Şekil 4.2. DOS MMP-9 ve IL-36 γ Total Miktarlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması $p < 0,01$



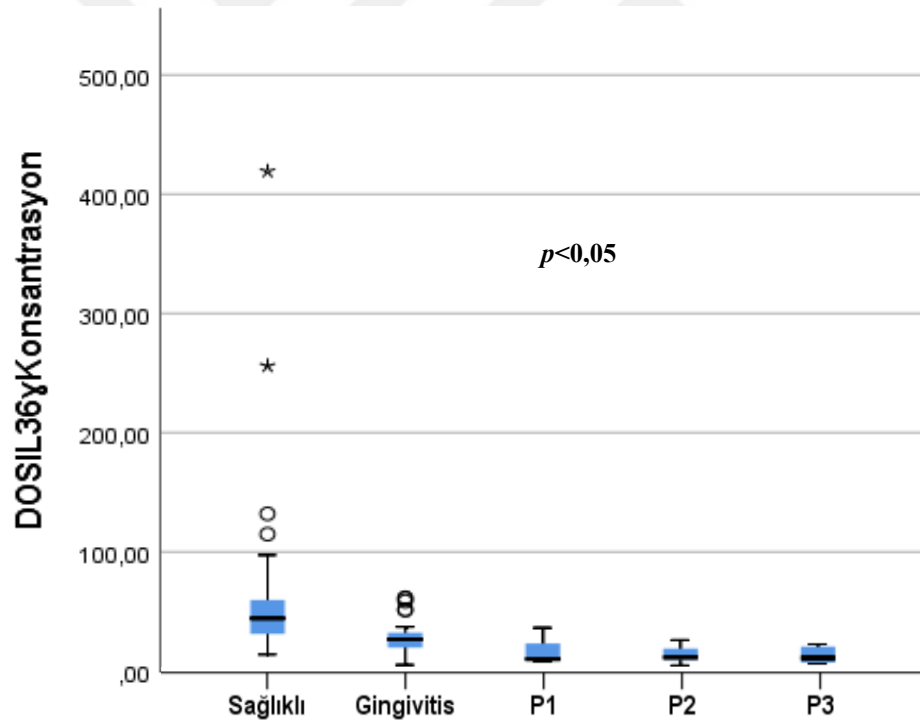
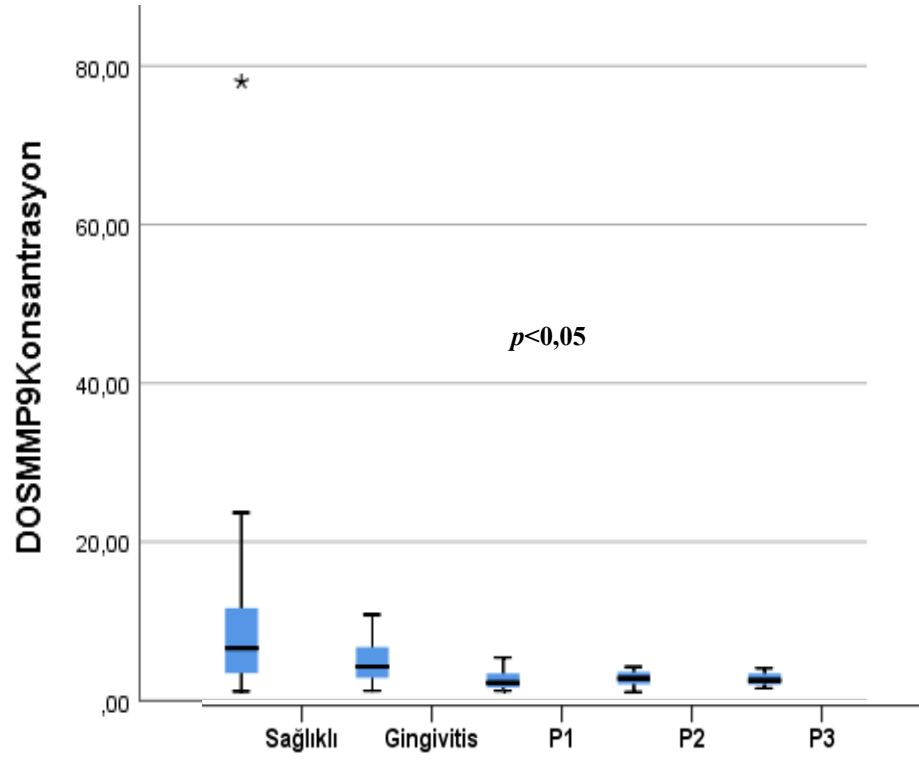
Şekil 4.3. DOS IL-17 ve IL-38 Total Miktarlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması $p<0,05$

Periodontitis Evrelerine Göre DOS Konsantrasyon Düzeylerinin Kıyaslanması

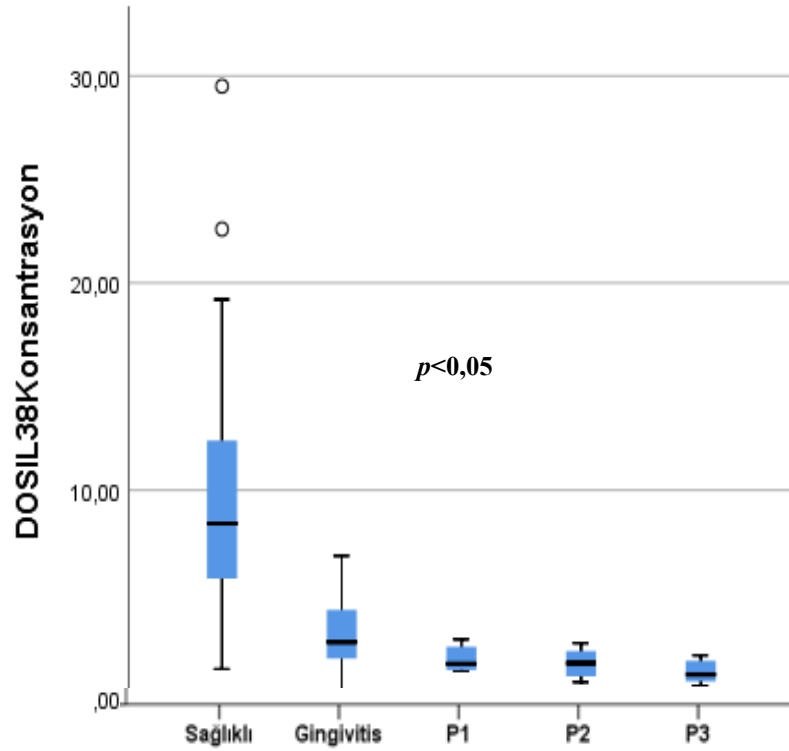
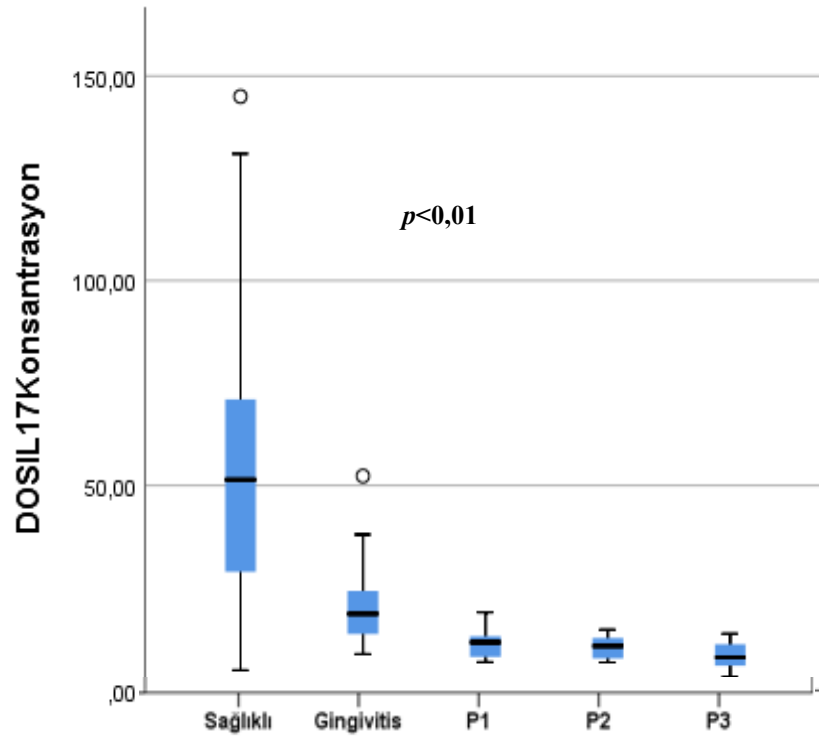
DOS MMP-9 konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır ve S grubunda DOS MMP-9 konsantrasyon seviyesi en yüksekti ($p<0,05$). G grubu ile P1,P2,P3 grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark olmakla beraber G grubunda daha yüksek MMP-9 konsantrasyonları ölçüldü ($p<0,05$). Periodontitis grupları arasında ise MMP-9 konsantrasyon değerleri bakımından istatistiksel olarak fark görülmedi ve P3 grubunda en düşük konsantrasyon değerleri izlendi.

DOS IL-17 ve DOS IL-38 konsantrasyon düzeyleri istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde MMP-9 analizine benzer sonuçlar görülmüştür. DOS IL-17 ve IL-38 konsantrasyon değerleri için S grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardı ve S grubunda ortalama konsantrasyon değerleri en yüksekti ($p<0,001$). G grubu ile P1 grubu arasında hem IL-17 ve hem IL-38 konsantrasyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla beraber G grubunda konsantrasyon seviyeleri daha yüksekti. P2 ve P3 grubu ile G grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ve P3 grubunda IL-17 konsantrasyonu en düşük izlendi. Öte yandan IL-38 DOS konsantrasyon değerleri IL-17'den farklı olarak P2 ve G arasında karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi Periodontitis grupları arasında karşılaştırma yapıldığında ise hem IL-17 hem de IL-38 için konsantrasyon değerleri bakımından istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$).

DOS IL-36 γ konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır ve S grubunda DOS IL-36 γ konsantrasyon seviyesi en yüksekti ($p<0,001$). G grubu ile periodontitis grupları DOS IL-36 γ seviyeleri bakımından kıyaslandığında G grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek izlendi. P1,P2,P3 grupları arasında ise anlamlı fark olmamakla beraber IL-36 γ seviyeleri en düşük P3 grubunda tespit edildi.



Şekil4.4.DOS MMP-9 ve IL-36 γ Konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması $p < 0,05$



Şekil 4.5. DOS IL-17 ve IL-38 Konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması $p < 0,05$

Tablo 4.11. Periodontitis Evrelerine Göre Tükürük ve Serum Kons. Düzeylerinin Karşılaştırılması

Biyokimyasal veriler /Grup	Sağlıklı	Gingivitis	Periodontitis			p
			P1	P2	P3	
Tükürük Kons.						
MMP-9(ng/ml)						
Ort±SS	6,95±2,83	9,03±4,42	9,71±4,76	14,02±3,59*†δ	14,68±4,03*†δ	<,001
Medyan(IQR)	6,17(4,46-9,24)	8,21(5,95-10,75)	8,53(6,83-12,43)	13,97(11,69-16,39)	14,49(10,4-19,13)	
IL-17(pg/ml)						
Ort±SS	9,37±2,85	14,85±8,6*	29,12±12,96*	42,3±12,98*†δ	46,83±26,34*†δ	<,001
Medyan(IQR)	8,96(7,46-10,31)	11,87(9,5-17,71)	23,61(20,24-40,67)	42,59(37,38-47,67)	43,88(27,83-74,07)	
IL-36γ(pg/ml)						
Ort±SS	144,1±78,97	199,36±98,99	264,92±98,42*	451,49±150,01*†δ	492,83±115,21*†δ	<,001
Medyan(IQR)	117,54(90-175,29)	177,53(120,7-264,71)	292,35(175,29-317,33)	461,03(359,6-568,92)	467,1(400-618,99)	
IL-38 (pg/ml)						
Ort±SS	5,63±2,48	9,07±6,73	17,96±11,14*†	18,57±8,67*†	19,72±11,98*†	<,001
Medyan(IQR)	5,3(3,97-6,92)	7,21(4,42-11,6)	14,62(7,21-23,77)	15,41(12,06-27,52)	18,4(12,06-24,92)	
Serum Kons.						
MMP-9 (pg/ml)						
Ort±SS	0,24±0,11	0,29±0,13	0,3±0,12	0,32±0,13	0,35±0,18	0,155
Medyan(IQR)	0,2(0,15-0,29)	0,27(0,21-0,35)	0,27(0,23-0,37)	0,29(0,21-0,49)	0,3(0,21-0,4)	
IL-17 (pg/ml)						
Ort±SS	13,95±5,67	20,94±11,01	44,29±26,74*†	48,19±24,59*†	50,16±23,17*†	<,001
Medyan(IQR)	12,16(10,67-14,67)	15,8(12,44-31,86)	39,34(18,33-69,92)	44,71(29,64-56,24)	49,6(31,86-61,84)	
IL-36γ (pg/ml)						
Ort±SS	45,91±17,81	51,38±20,21	93,37±48,47*†	104,53±39,81*†	110,81±51,51*†	<,001
Medyan(IQR)	47,3(34,78-56,53)	51,33(40,14-67,78)	86,43(55,79-112,82)	88,47(79,96-130,63)	99,03(64,12-135,14)	
IL-38 (pg/ml)						
Ort±SS	2,91±1,3	4,41±2,36	13,62±8,35*†	15,92±10,52*†	16,01±10,99*†	<,001
Medyan(IQR)	2,56(1,87-3,63)	3,34(2,67-6,25)	15,07(4,97-16,54)	15,25(7,53-20,23)	15,45(6,73-20,14)	

*:Sağlıklı gruba göre grup içi istatistiksel anlamlılık, †:Gingivitis grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, δ:P1 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık, χ: P2 grubuna göre grup içi istatistiksel anlamlılık $p<0,05$

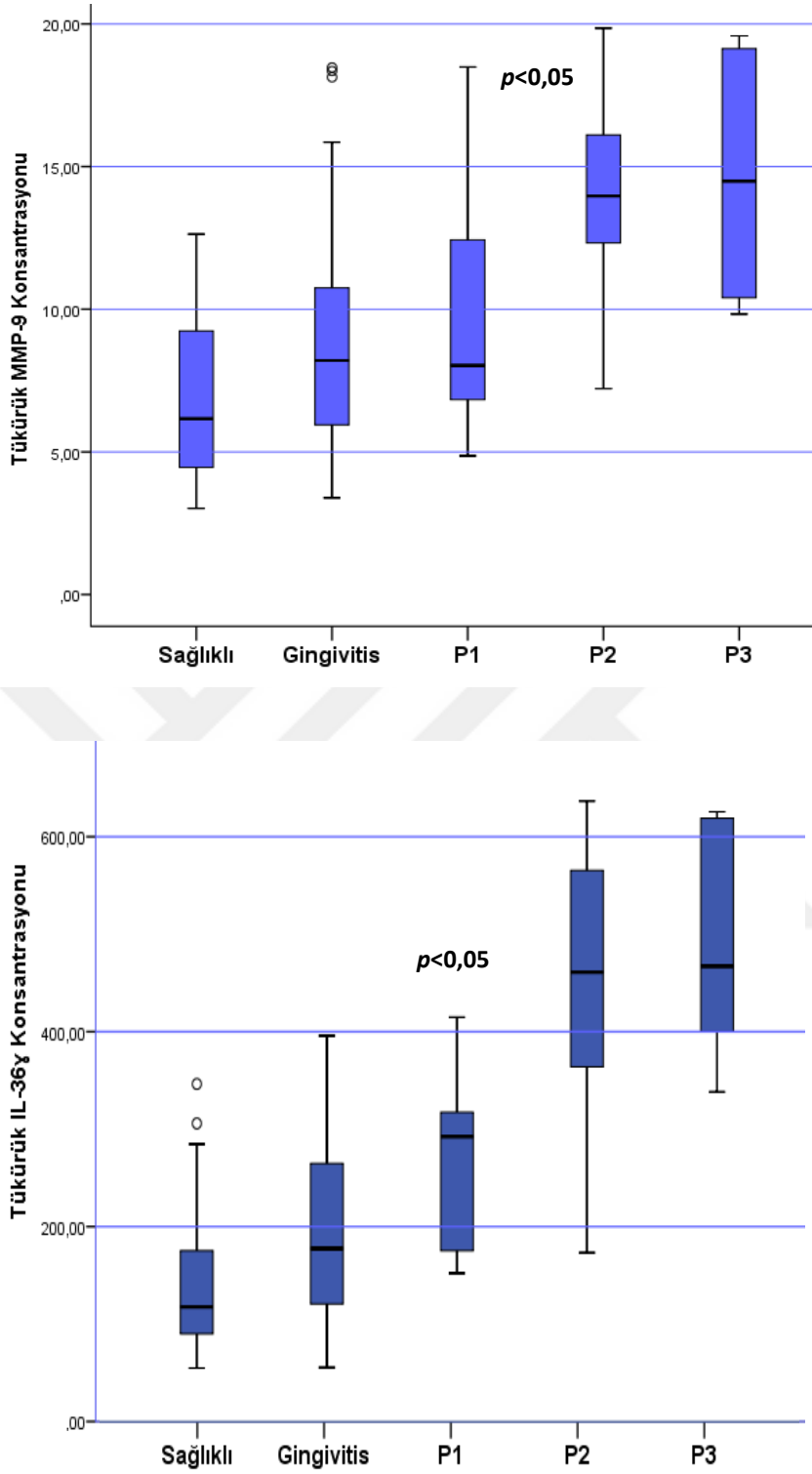
Periodontitis Evrelerine Göre Tükürük Konsantrasyon Düzeylerinin Kıyaslanması

Tükürük MMP-9 konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S, G ve P1 grubu için sonuçlar benzerdi ($p>0,05$). Fakat MMP-9 ortalama konsantrasyon değerleri S, P2 ve P3 gruplarında karşılaştırıldığında S grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulundu ($p<0,001$). Periodontitis grupları MMP-9 konsantrasyon değerleri açısından karşılaştırıldığında ise P1 grubunda P2 ve P3 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük MMP-9 konsantrasyonu izlenirken P2 ve P3 grubu arasında fark görülmedi ($p>0,05$). En yüksek MMP-9 konsantrasyonu ise P3 grubunda tespit edildi.

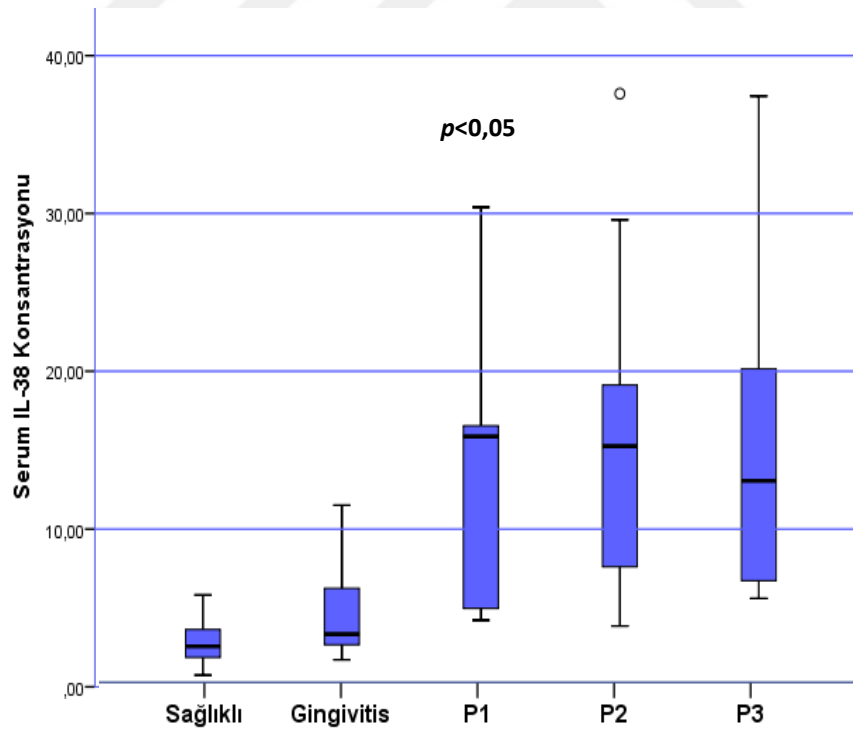
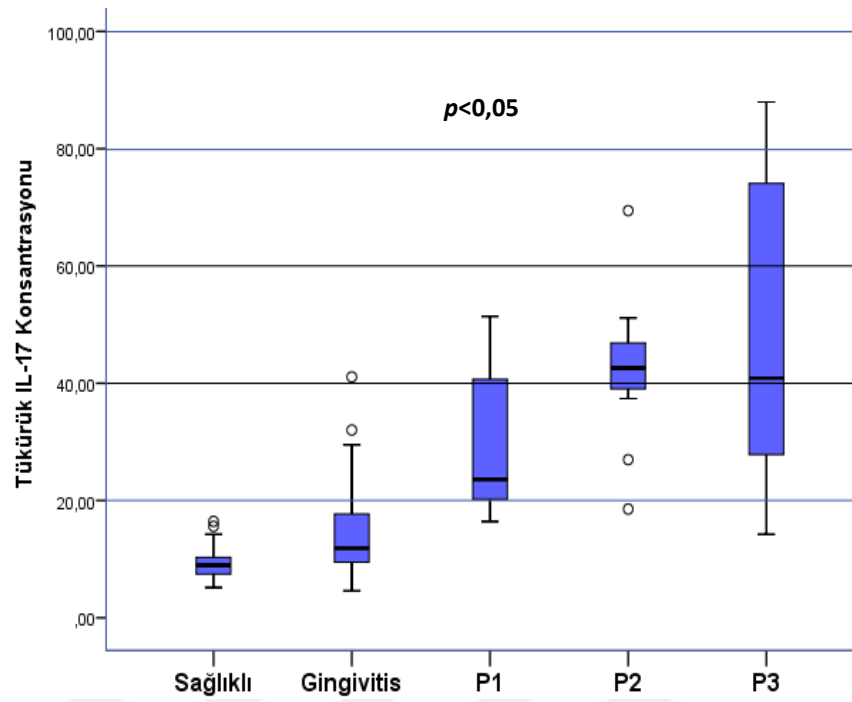
Tükürük IL-17 konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır ve en düşük tükürük IL-17 konsantrasyon seviyesi S grubunda izlendi ($p<0,001$). Gingivitis grubu ile periodontitis grupları IL-17 konsantrasyonu açısından değerlendirildiğinde, G grubunda ortalama konsantrasyon değerleri P2 ve P3 grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü, fakat P1 grubuyla aralarında istatistiksel olarak fark izlenmedi. Periodontitis grupları arasında ise IL-17 P2 ve P3 grubunda P1 grubundan istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek tespit edildi.

Tükürük IL-36 γ konsantrasyon seviyeleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubu ile G grubu arasında istatistiksel açıdan fark yoktu ($p>0,05$). Ancak S grubu periodontitis grupları ile karşılaştırıldığında S grubunda istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha düşük ortalama konsantrasyon seviyeleri izlendi ($p<0,001$). G grubu ile P2 arasında tükürük IL-36 γ açısından fark görülmezken P2 ve P3 ile G ve P1 grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardı ($p<0,001$).

Tükürük IL-38 konsantrasyon seviyeleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında S grubu ile G grubu arasında istatistiksel açıdan fark yoktu ($p>0,05$). Ancak S grubu periodontitis grupları ile karşılaştırıldığında S grubunda istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha düşük ortalama konsantrasyon seviyeleri izlendi ($p<0,001$). G grubu ile periodontitis grupları arasında karşılaştırma yapıldığında benzer şekilde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve tüm periodontitis gruplarında IL-38 tükürük konsantrasyon seviyeleri G grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek izlendi ($p<0,001$). Periodontitis grupları arasında ise sonuçlar benzerdi ($p>0,05$).



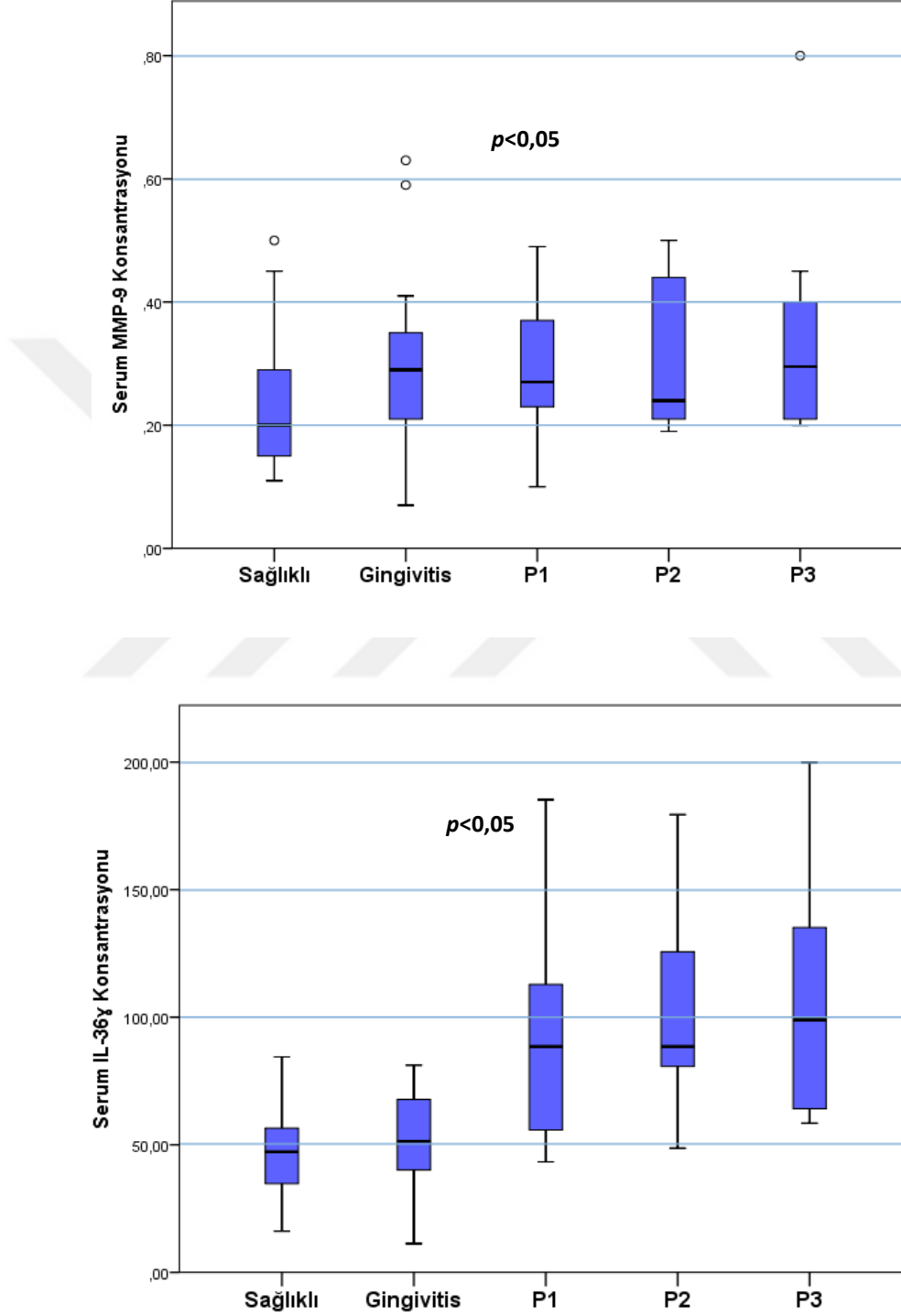
Şekil 4.6. Tükürük MMP-9 ve IL-36γ Konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması $p<0,05$



Şekil 4.7. Tükürük IL-17 ve IL-38 Konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması $p < 0,05$

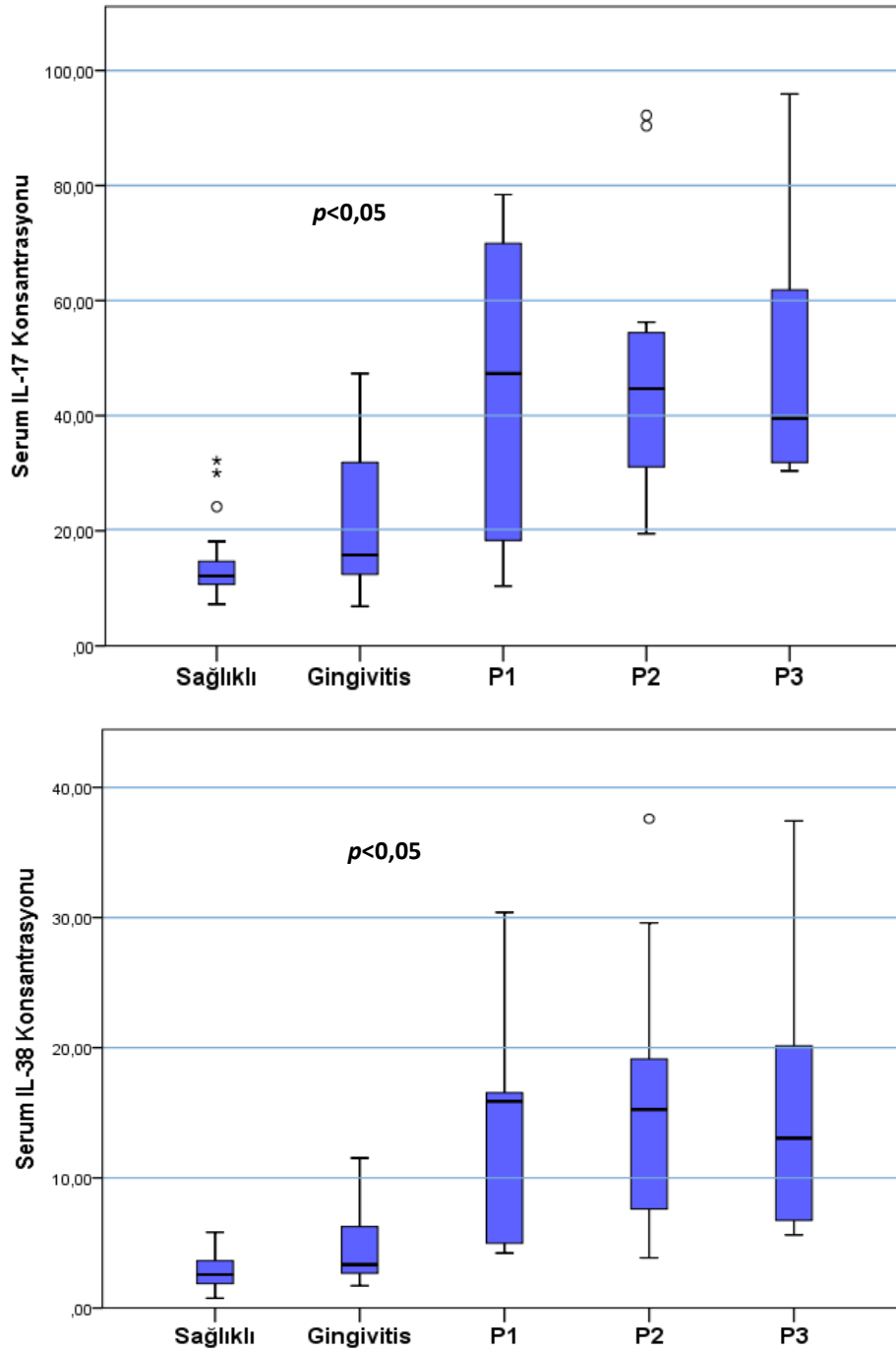
Periodontitis Evrelerine Göre Serum Konsantrasyon Düzeylerinin Kıyaslanması

Serum MMP-9 konsantrasyon seviyeleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark izlenmedi ($p=0,155$).



Şekil 4.8. Serum MMP-9 ve IL-36γ Konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması $p < 0,05$

Serum IL-17, IL-36 γ ve IL-38 konsantrasyon seviyeleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise S ve G grupları arasında fark görülmezken; tüm periodontitis gruplarında S ve G grubuna kıyasla serum konsantrasyonları için istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek sonuçlar tespit edildi. Fakat periodontitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 4.9: Serum IL-17 ve IL-38 Konsantrasyonlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması $p<0,05$

4.4 Klinik ve Biyokimyasal Verilerin Korelasyon Analizleri

Çalışma gruplarında tüm ağız ortalama periodontal klinik parametrelerin ve DOS hacim verilerinin kendi aralarındaki korelasyon bulguları biyokimyasal verilerin ve biyokimyasal veriler ile klinik parametreler arasındaki korelasyonların tespiti Spearman sıralı korelasyon katsayısı analizi ile yapılmıştır. Spearman's Rho (r_s) korelasyon katsayısı olarak, p istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak verilmiştir.

4.4.1 Çalışma Geneli Klinik Korelasyonlar

Tüm ağız ortalama periodontal klinik parametreler arasındaki ilişkiler **Tablo 4.12'**de verilmiştir. Çalışmaya dahil edilen bireylerin tüm ağız periodontal klinik parametrelerinin tamamı kendi arasında yüksek pozitif korelasyon göstermiştir.

Tablo 4.12. Klinik Verilerin Kendi Aralarındaki Spearman Korelasyon Bulguları

Korelasyon Matriksi/Klinik Parametre	Spearman's Rho (r_s)	Pİ	Gİ	SCD	KAS	SK(%)
Pİ	r	-				
	p	-				
Gİ	r	0,675***	-			
	p	<0,001	-			
SCD	r	0,664***	0,678***	-		
	p	<0,001	<0,001	-		
KAS	r	0,645***	0,667***	0,992***	-	
	p	<0,001	<0,001	<0,001	-	
SK(%)	r	0,701***	0,894***	0,707***	0,698***	-
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-

Pİ: tüm ağız ortalama plak indeks Gİ: tüm ağız ortalama gingival indeks, SCD: tüm ağız ortalama sondlanabilir cep derinliği, KAS: tüm ağız ortalama klinik ataçman seviyesi SK(%): tüm ağız ortalama sondlamada kanama yüzdesi r :Spearman'ın korelasyon katsayısı p :Spearman's Rho korelasyon katsayısı için anlamlılık değeri *: $p<0,05$ **: $p<0,01$ ***: $p<0,001$

4.4.2 Çalışma Geneli DOS Alınan Dişlere Ait Klinik Korelasyonlar

DOS alınan dişlere ait ortalama periodontal klinik parametrelerin tüm ağız klinik parametreler ve kendi aralarındaki korelasyon ilişkileri **Tablo 4.13. ve 4.14.'**de verilmiştir. Örnek alınan dişlere ait klinik parametreler ile tüm ağız klinik parametreler ile arasında orta ve yüksek düzey pozitif korelasyon söz konusudur.

Plak indeks (1) ve G1 arasında çok yüksek pozitif korelasyon, P2 ve G2 arasında ise yüksek düzey pozitif korelasyon izlendi.

P1 ve G1'in SCD, KAS ve SK(%) ile ilişkisine bakıldığında; herbiri arasında yüksek düzey pozitif korelasyon varken P2 ve G2 'nin SCD, KAS, ve SK(%) ile arasında orta düzey pozitif korelasyon vardı.

Hem SCD1 hem de SCD2'nin KAS ile korelasyonuna bakıldığında çok yüksek pozitif korelasyon görüldü.

SCD ve KAS'ın SK(%) ile ilişkisine bakıldığında; her iki örnekleme de orta düzey pozitif korelasyon görüldü ($r= 0,499-0,434-r=0,480-0,427$).



Tablo 4.13. Çalışma Geneli DOS Alınan Dişler ve Tüm Ağız Klinik Parametrelerin Korelasyonları

		P1	P2	G1	G2	SCD1	SCD2	KAS1	KAS2	SK1	SK2
PI	r	,668**	,665**	,638**	,624**	,653**	,628**	,655**	,622**	,445**	,439**
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001
GI	r	,616**	,699**	,707**	,786**	,607**	,590**	,598**	,575**	,485**	,507**
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001
SCD (mm)	r	,567**	,536**	,550**	,582**	,760**	,766**	,758**	,763**	,417**	,412**
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001
KAS (mm)	r	,540**	,509**	,532**	,569**	,756**	,761**	,753**	,756**	,411**	,397**
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001
SK (%)	r	,661**	,673**	,734**	,792**	,640**	,632**	,631**	,624**	,510**	,552**
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001

P1, 1. Örneğe ait plak indeks; G1, 1. Örneğe ait gingival indeks; SCD1, 1. Örneğe ait sondlanabilir cep derinliği; KAS1, 1. Örneğe ait klinik ataşman seviyesi; SK1, 1. Örneğe ait sondlamada kanama. P2, 2. Örneğe ait plak indeks; G2, 2. Örneğe ait gingival indeks; SCD2, 2. Örneğe ait sondlanabilir cep derinliği; KAS2, 2. Örneğe ait klinik ataşman seviyesi; SK2, 2. Örneğe ait sondlamada kanama. r: Spearman's Sıralı korelasyon testi p:Spearman's Rho korelasyon katsayısı için anlamlılık değeri **:Korelasyon p=0,01 düzeyinde anlamlıdır.

Tablo 4.14. Çalışma Geneli DOS Alınan Dişlere Ait Klinik Parametrelerin Birbirleri ile Korelasyonları

		P1	P2	G1	G2	SCD1	SCD2	KAS1	KAS2	SK1	SK2
P1	r	1,000									
	p										
P2	r	,791**	1,000								
	p	<,001									
G1	r	,847**	,738**	1,000							
	p	<,001	<,001								
G2	r	,695**	,778**	,788**	1,000						
	p	<,001	<,001	<,001							
SCD1	r	,629	,583**	,605**	,604**	1,000					
	p	<,001	<,001	<,001	<,001						
SCD2	r	,528**	,517**	,504**	,568**	,822**	1,000				
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001					
KAS1	r	,628**	,555**	,609**	,591**	,982**	,818**	1,000			
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001				
KAS2	p	,564**	,520**	,529**	,566**	,845**	,978**	,841**	1,000		
	r	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001			
SK1	p	,646**	,473**	,749**	,542**	,499**	,360**	,480**	,395**	1,000	
	r	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001		
SK2	p	,496**	,553**	,589**	,764**	,447**	,434**	,425**	,427**	,373**	1,000
	r	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	

r: Spearman's Sıralı korelasyon testi p:Spearman's Rho korelasyon katsayısı için anlamlılık değeri **:Korelasyon p=0,01 düzeyinde anlamlıdır.

4.4.3 Çalışma Geneli Klinik Parametreler ile Biyokimyasal Verilerin Korelasyonları

Çalışma gruplarında biyokimyasal verilerin klinik parametreler ile arasındaki korelasyon bulguları **Tablo 4.15.**'da verilmiştir.

Tablo 4.15. Biyokimyasal Verilerin Klinik Parametreler ile Arasındaki Spearman Korelasyon Bulguları

Biyokimyasal parametreler(n:90)	PI		GI		SCD (mm)		KAS (mm)		SK (%)	
	r	p	r	p	r	p	R	p	r	p
DOS hacim										
D1(µl)	0,706	<0,001	0,752	<0,001	0,792	<0,001	0,790	<0,001	0,550	<0,001
D2 (µl)	0,677	<0,001	0,726	<0,001	0,779	<0,001	0,785	<0,001	0,582	<0,001
DOS Total Miktar										
DOS MMP-9	0,588	<0,001	0,586	<0,001	0,610	<0,001	0,604	<0,001	0,382	<0,001
DOS IL-17	0,617	<0,001	0,696	<0,001	0,715	<0,001	0,733	<0,001	0,577	<0,001
DOS IL-36γ	0,480	<0,001	0,469	<0,001	0,534	<0,001	0,548	<0,001	0,304	0,004
DOS IL-38	0,407	<0,001	0,516	<0,001	0,568	<0,001	0,585	<0,001	0,319	0,002
DOS Konsantrasyon										
DOS MMP-9	-0,358	0,003	-0,385	0,001	-0,469	<0,001	-0,471	<0,001	-0,316	0,002
DOS IL-17	-0,527	<0,001	-0,535	<0,001	-0,725	<0,001	-0,727	<0,001	-0,343	<0,001
DOS IL-36γ	-0,553	<0,001	-0,600	<0,001	-0,611	<0,001	-0,595	<0,001	-0,455	<0,001
DOS IL-38	-0,635	<0,001	-0,620	<0,001	-0,646	<0,001	-0,647	<0,001	-0,477	<0,001
Tükürük Konsantrasyon										
Tükürük MMP-9	0,353	0,001	0,355	0,001	0,444	<0,001	0,449	<0,001	0,378	<0,001
Tükürük IL-17	0,571	<0,001	0,544	<0,001	0,696	<0,001	0,690	<0,001	0,652	<0,001
Tükürük IL-36γ	0,531	<0,001	0,507	<0,001	0,585	<0,001	0,591	<0,001	0,523	<0,001
Tükürük IL-38	0,472	<0,001	0,427	<0,001	0,492	<0,001	0,498	<0,001	0,467	<0,001
Serum Konsantrasyon										
Serum MMP-9	0,076	0,474	0,114	0,283	0,174	0,101	0,191	0,071	0,201	0,059
Serum IL-17	0,515	<0,001	0,470	<0,001	0,593	<0,001	0,589	<0,001	0,474	<0,001
Serum IL-36γ	0,471	<0,001	0,419	<0,001	0,566	<0,001	0,563	<0,001	0,439	<0,001
Serum IL-38	0,609	<0,001	0,588	<0,001	0,702	<0,001	0,694	<0,001	0,575	<0,001

Spearman's rank Korelasyon Testi. r_s : Spearman'ın korelasyon katsayısı p:"Spearman's Rho" korelasyon katsayısı için anlamlılık değeri

DOS hacmi ile tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, KAS ve SK arasında yüksek pozitif korelasyon izlendi ve sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).

Yapılan istatistiksel değerlendirmede; lokal yıkım alanı hakkında bilgi vermesi sebebiyle DOS ilişkili biyokimyasal parametreler ile elde edildiği dişlere ait klinik veriler arasındaki korelasyonlar da incelendi. Tabloda DOS MMP-9 ve IL-36 γ total miktar ve konsantrasyon değerlerinin D1 örneğine ait klinik parametreler ile korelasyonu verilmiştir. DOS IL-17 ve IL-38 total miktar ve konsantrasyon değerlerinin ise D2 örneğine ait klinik parametreler ile korelasyonları tabloya yansıtılmıştır.

DOS MMP-9 total miktar düzeyleri ile tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, KAS ve SK arasında istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere orta düzey pozitif korelasyon izlendi ($r=0,416-0,491; p<0,001$). DOS IL-17 total miktar düzeyleri ile tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, KAS ve SK arasında istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere yüksek pozitif korelasyon izlendi ($r=0,677-0,746$). DOS IL-36 γ total miktar düzeyleri ile tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, KAS ve SK arasında orta düzey pozitif korelasyon izlendi ($r=0,438-0,505$). Korelasyon istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). DOS IL-38 total miktar düzeyi tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, KAS ve SK arasında anlamlı olmak üzere orta düzey pozitif korelasyon izlendi ($r=0,468-0,511; p<0,001$).

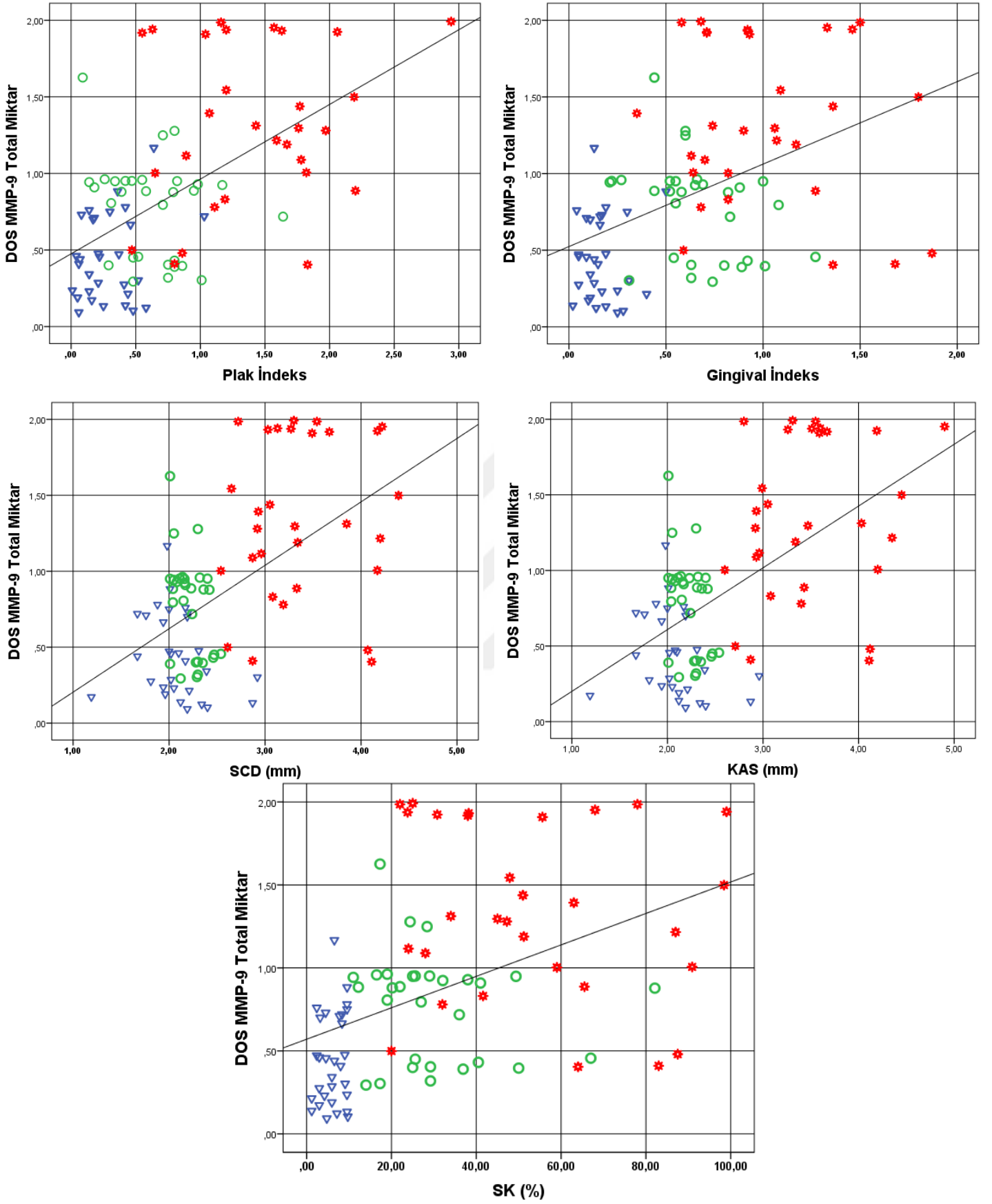
DOS, MMP-9, DOS IL36 γ ve IL-38 total miktar düzeyleri ile örnek alınan dişlere ait klinik periodontal parametreler ile arasındaki ilişkiye bakıldığında; tüm ağız korelasyonlarla paralel şekilde istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere orta pozitif korelasyon saptandı. IL-17 total miktar ve örnek alınan dişler arasındaki ilişki incelendiğinde yine tüm ağız klinik parametrelerle paralel şekilde yüksek pozitif korelasyon görüldü.

Tükürük IL-36 γ ve IL-38 ile tüm ağız klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere orta düzey pozitif korelasyon izlendi ($r=0,427-0,591$). Tükürük IL-17 konsantrasyonları ile tüm ağız Pİ ve Gİ arasında da orta düzey pozitif korelasyon izlenirken SCD($r=0,696$), KAS($r=0,690$) ve SK yüzdesi ($r=0,652$) ile IL-17 arasında yüksek pozitif korelasyon görüldü. Tükürük MMP-9 konsantrasyonları ile Pİ ($r=0,353$),

Gİ ($r=0,355$) ve SK yüzdesi ($r=0,378$) arasında ise düşük pozitif korelasyon izlenirken, SCD($r=0,444$) ve KAS ($r=0,449$) ile aralarında orta düzey pozitif korelasyon izlenmiştir ($p<0,05$).

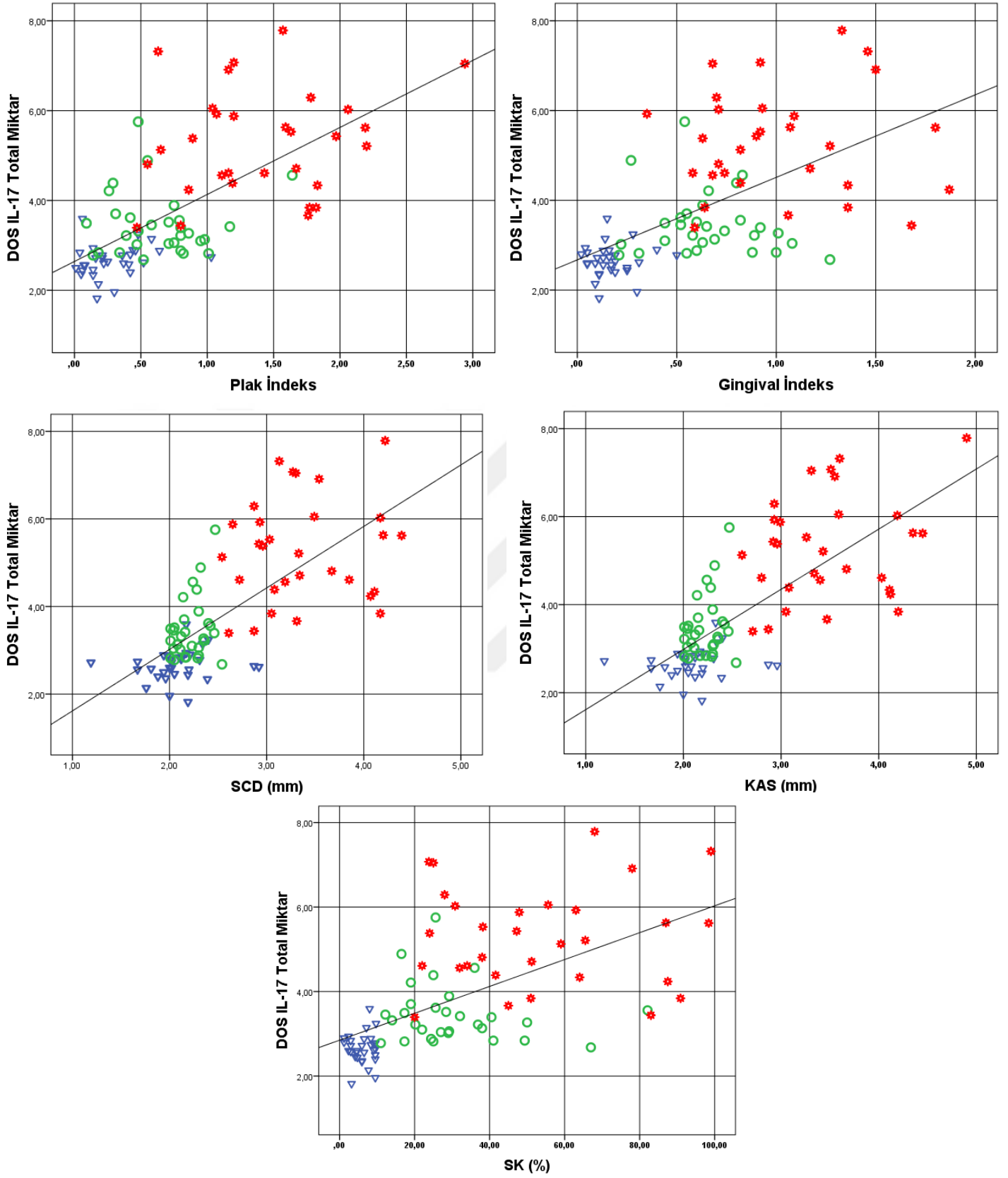
Serum IL-36 γ , IL-17 ve tüm ağız Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK arasında orta düzey pozitif korelasyon izlendi ($p<0,001$). Buna karşılık serum MMP-9 ile klinik veriler ile istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere herhangi bir korelasyon yoktur ($p>0,05$). IL-38 ile PI, SCD ve KAS ile yüksek pozitif korelasyon izlenirken GI ve SK(%) ile orta düzey görüldü.

Biyokimyasal verilerin tüm ağız klinik periodontal parametreler ile ilişkileri **Şekil 4.10-4.20**'de Scatter Plot dağılım grafiği ile verilmiştir.

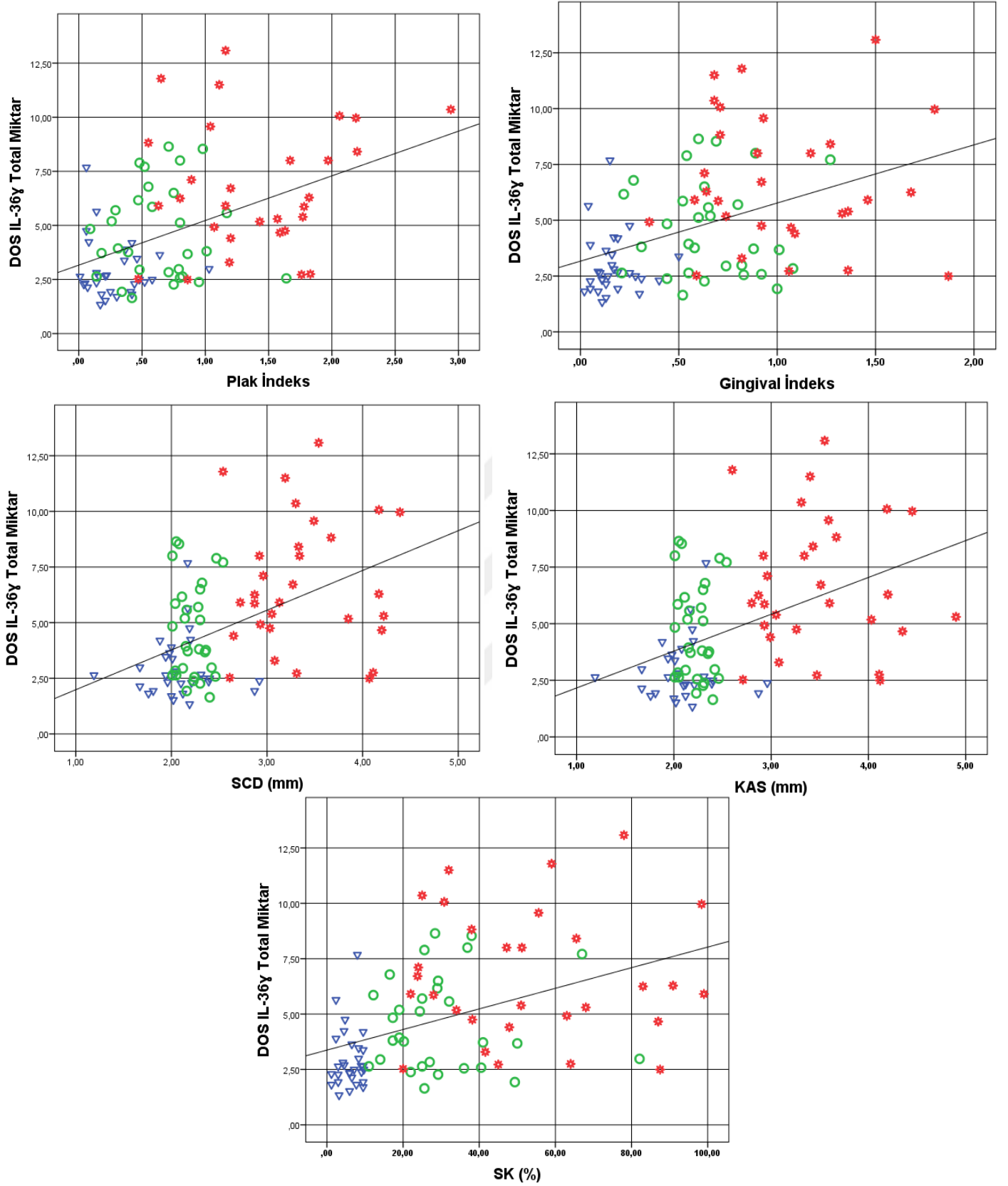


Şekil 4.10. DOS MMP-9 Total Miktarı ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

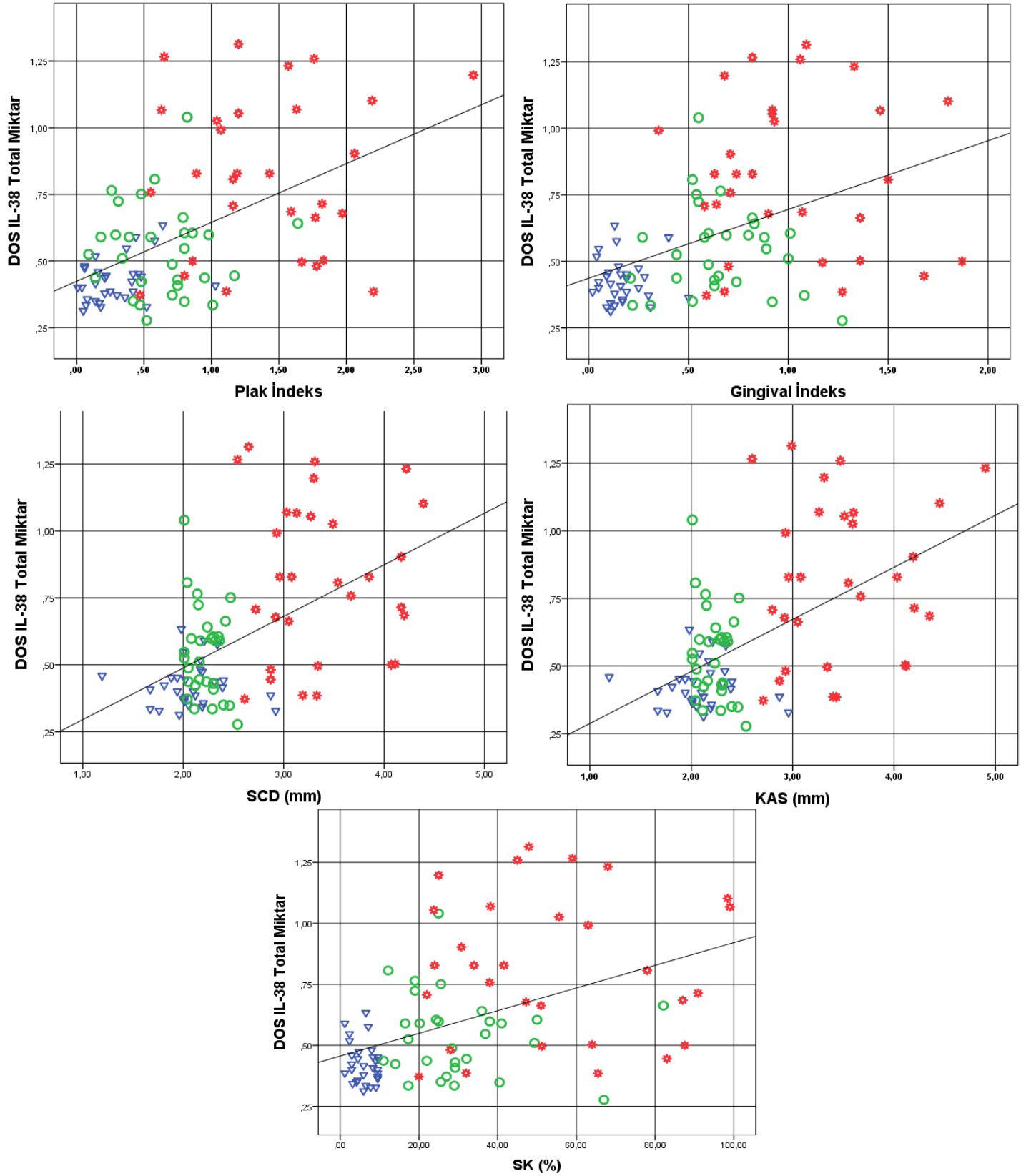
Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.



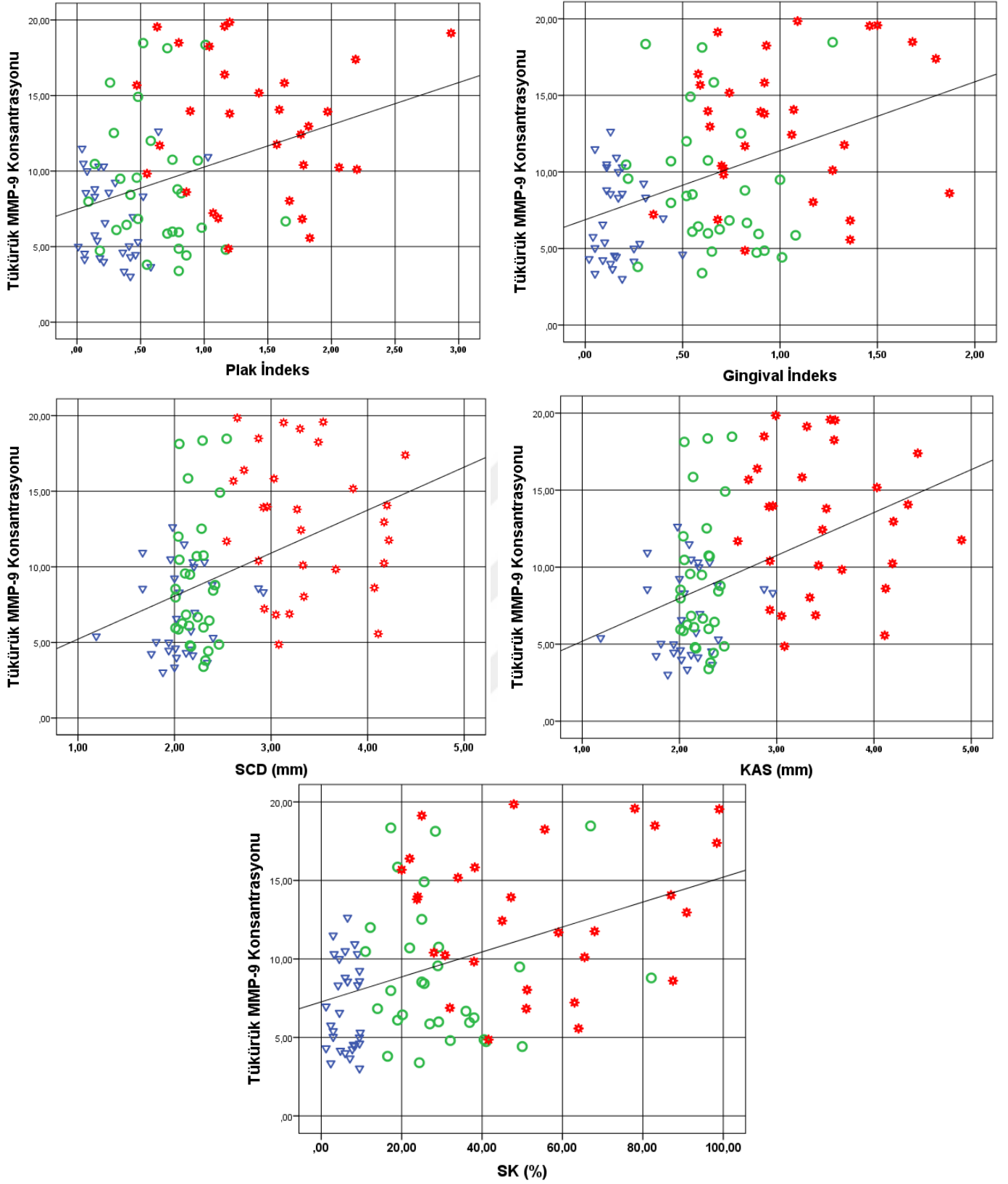
Şekil 4.11. DOS IL-17 Total Miktarları ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler
 Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.



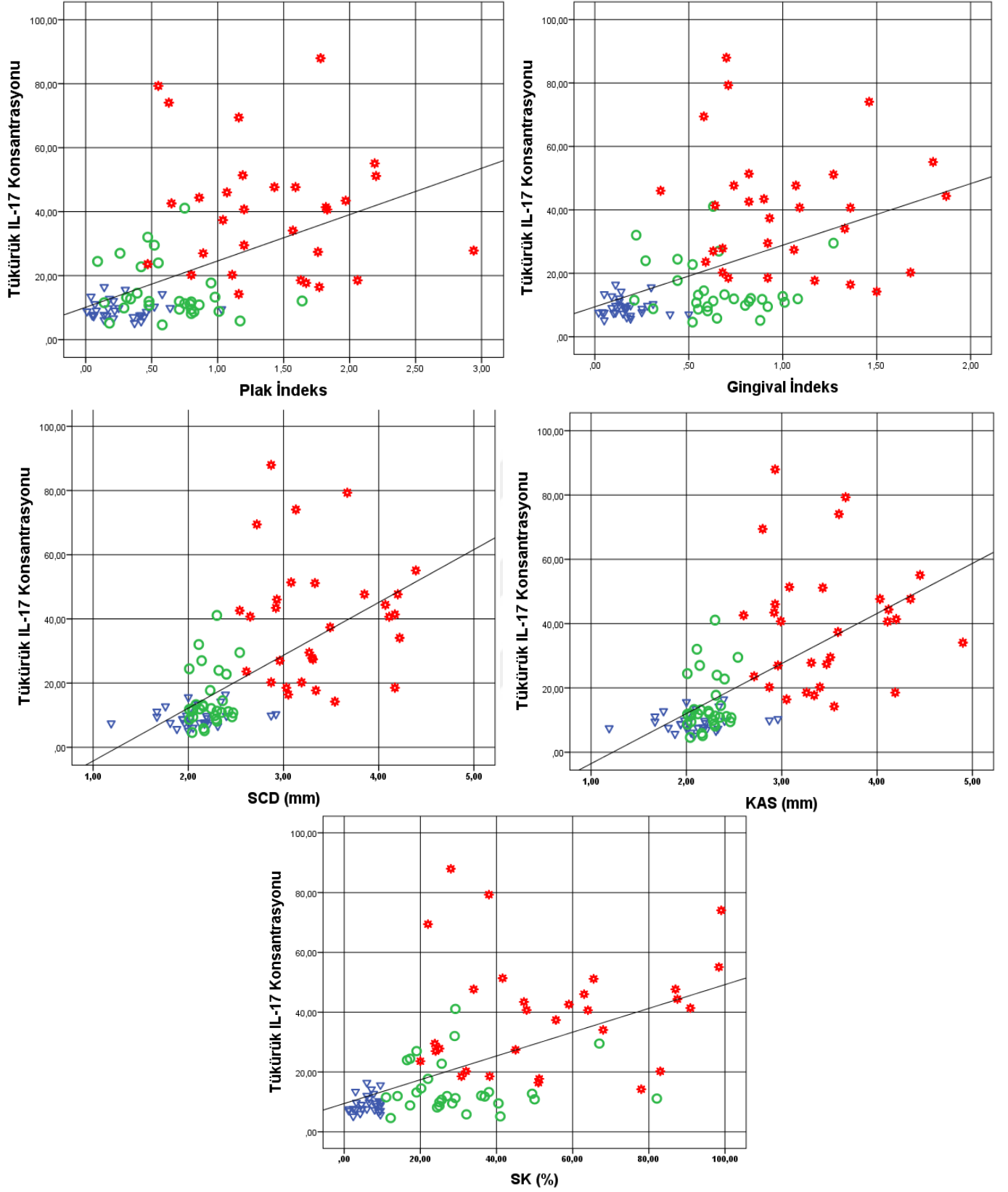
Şekil 4.12. DOS IL-36γ Total Miktarları ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki
Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.



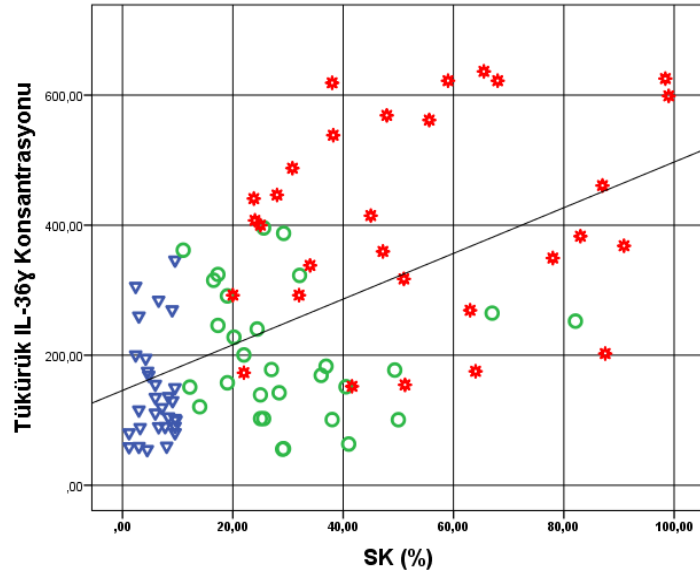
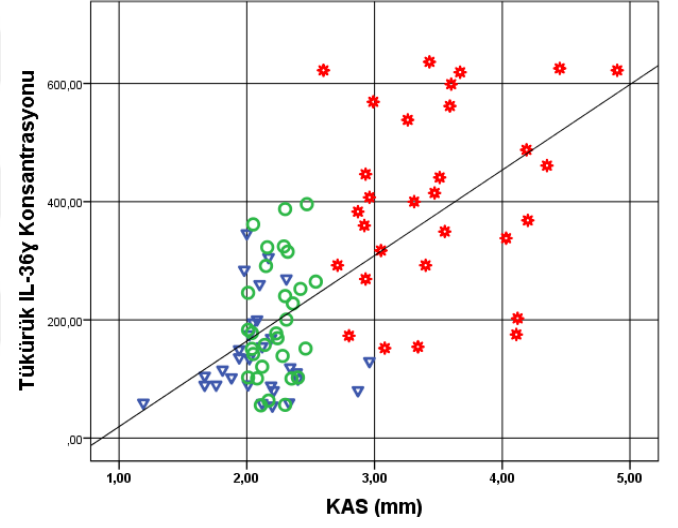
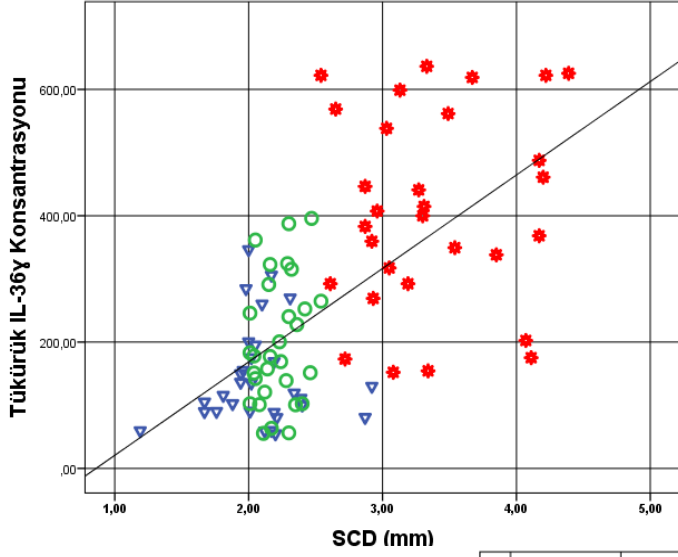
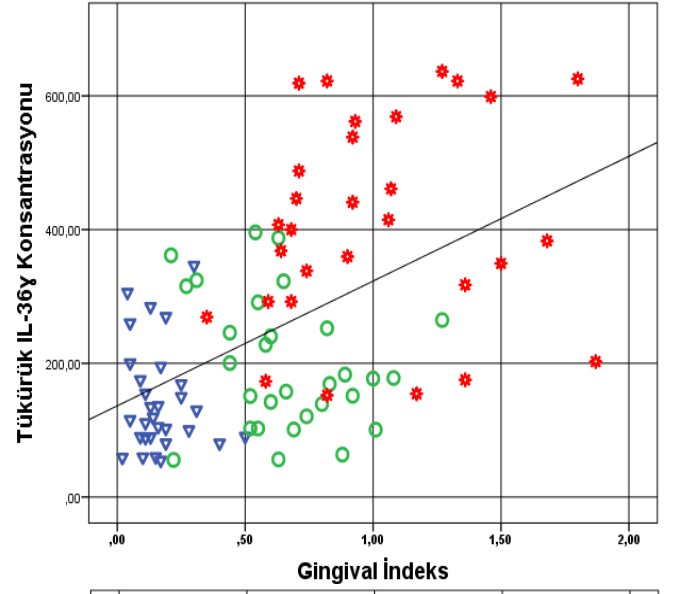
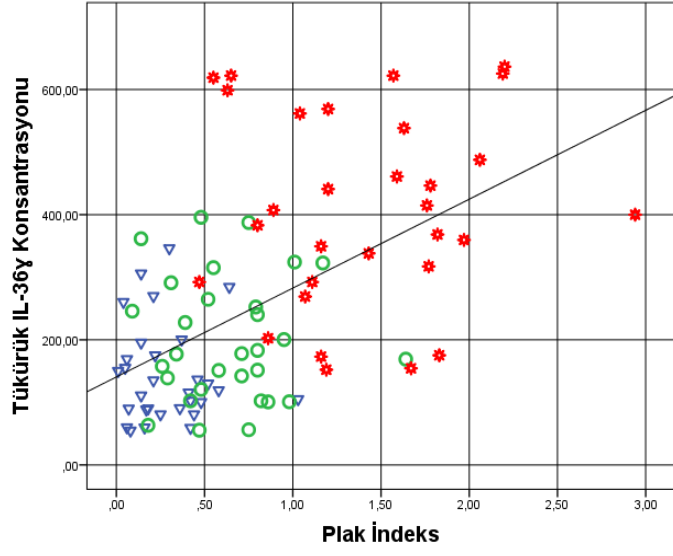
Şekil 4.13. DOS IL-38 Total Miktarları ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki
Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.



Şekil 4.14. Tükürük MMP-9 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki
Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.

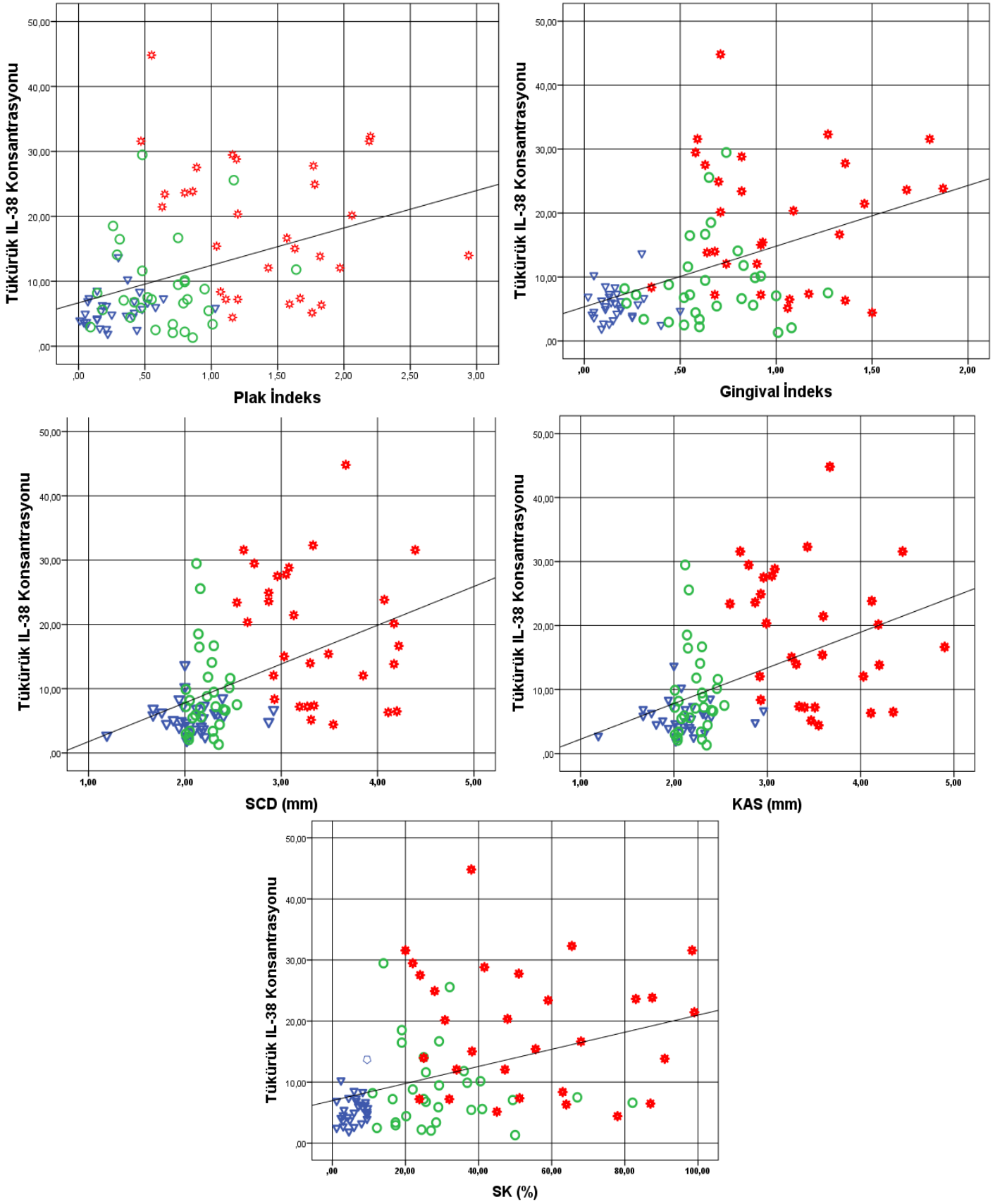


Şekil 4.15. Tükürük IL-17 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişki
Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.



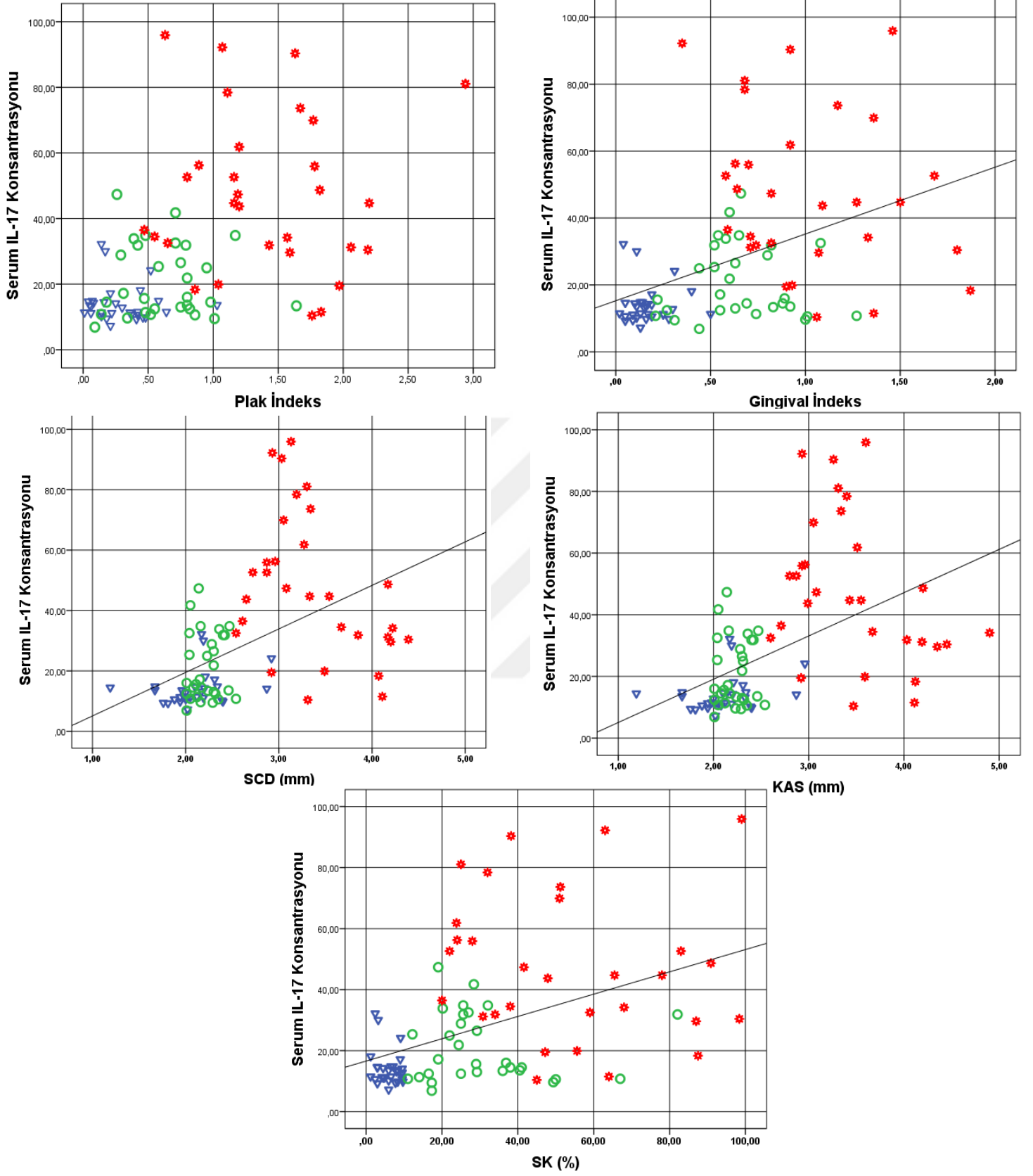
Şekil 4.16. Tükürük IL-36γ Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.

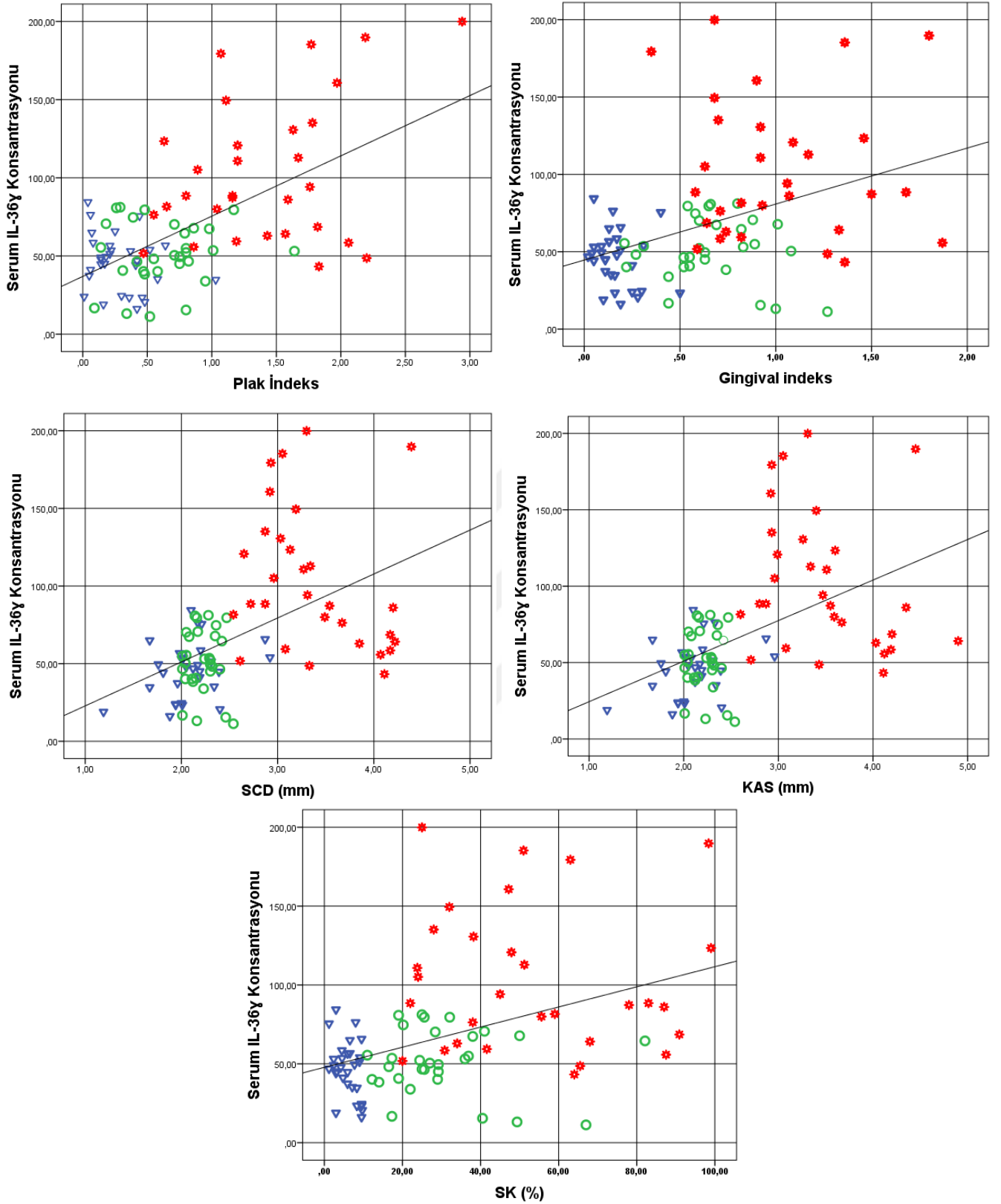


Şekil 4.17. Tükürük IL-38 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

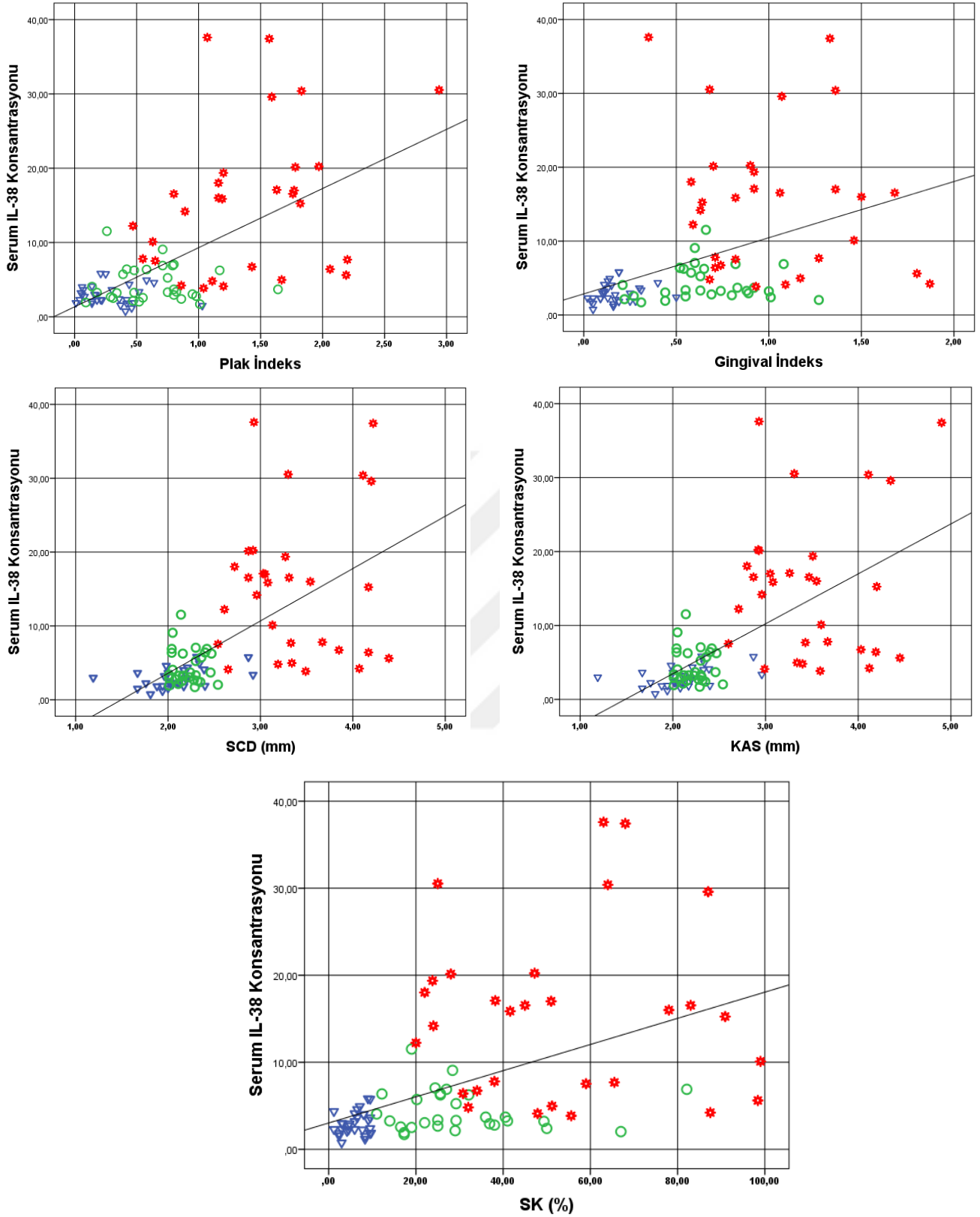
Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.



Şekil 4.18. Serum IL-17 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler
Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.



Şekil 4.19. Serum IL-36 γ Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler
Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.



Şekil 4.20. Serum IL-38 Konsantrasyonu ile Tüm Ağız Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler
Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.

4.4.4 Çalışma Geneli Biyokimyasal Verilerin Birbirleri ile Korelasyonları

Çalışma geneli biyokimyasal verilerin birbirleri ile arasındaki korelasyonları istatistiksel olarak değerlendirildi. DOS IL-36 γ , IL-17, IL-38 ve MMP-9 total miktarları ve DOS hacmi arasındaki ilişkiye bakıldığında MMP-9 ile IL-36 γ , IL-17 ve IL-38 arasında orta düzey pozitif korelasyon saptandı ($r=0,463-0,583$). IL-17 ile IL-36 γ arasında orta düzey korelasyon ($r=0,563$) izlenirken, IL-38 ile çok yüksek pozitif korelasyon ($r=0,802$) izlendi. IL-36 γ ile IL-38 arasında ise yüksek düzey korelasyon vardı ($r=0,630$). DOS hacmi ile aralarındaki korelasyona bakıldığında; MMP-9 ve IL-36 γ ile DOS hacmi arasında yüksek düzey pozitif korelasyon; IL-17 ve IL-38 ile DOS hacmi arasında ise sırasıyla yüksek ve orta düzey pozitif korelasyon görüldü.

DOS MMP-9 total miktarı ile tükürük ve serum MMP-9 konsantrasyonu arasındaki korelasyonlar incelendiğinde tükürük ile DOS MMP-9 arasında orta düzey pozitif korelasyon varken, serum ile çok düşük pozitif ilişki olsa bile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

DOS IL-17 total miktarı ile tükürük ve serum IL-17 konsantrasyonu arasındaki korelasyon incelendiğinde; tükürük IL-17 değerleri ile yüksek düzey, serum IL-17 değerleri ile orta düzey pozitif korelasyon görüldü.

DOS IL-36 γ total miktarı ile tükürük ve serum IL-36 γ konsantrasyonu arasındaki korelasyon incelendiğinde; DOS total miktar düzeyleri ile tükürük ve serum IL-36 γ değerleri arasında orta düzey pozitif korelasyon görüldü.

DOS IL-38 total miktarı ile tükürük ve serum IL-38 konsantrasyonu arasındaki korelasyon incelendiğinde; DOS total miktar düzeyleri ile tükürük ve serum IL-38 değerleri arasında da orta düzey pozitif korelasyon görüldü.

Tükürük IL-36 γ , IL-17, IL-38 ve MMP-9 konsantrasyonlarına bakıldığında MMP-9 ile IL-17 ve IL-36 γ arasında istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere orta düzey pozitif korelasyon tespit edildi ($r=0,499-0,567$). IL-38 ile MMP-9 seviyeleri arasında ise düşük pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r=0,338$) IL-36 γ ile sırasıyla IL-17 ve IL-38 konsantrasyonları arasında orta düzey pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r=0,596-$

0,52). IL-38 ve IL-17 konsantrasyonları arasında ise yüksek düzey pozitif korelasyon izlenmiştir ($p<0,01$).

Serum IL-36 γ , IL-17, IL-38 ve MMP-9 konsantrasyonlarına bakıldığında MMP-9 ile IL-17 ve IL-36 γ ve IL-38 arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir korelasyona rastlanmadı ($p>0,05$). IL-38 ile IL-17 seviyeleri arasında da benzer şekilde anlamlı bir korelasyon yoktur. IL-36 γ ile sırasıyla IL-17 ve IL-38 konsantrasyonları arasında ise yüksek pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r=0,665-0,630$). Çalışma geneli biyokimyasal verilerin korelasyon ilişkileri **Tablo 4.16**'de verilmiştir.

Tüm ağız Matriks metalloproteinaz-9 ve IL-36 γ total miktar düzeyleri ile D1, IL-17 ve IL-38 total miktar düzeyleri ile D2 arasındaki ilişki Scatter Plot dağılım grafiği ile **Şekil. 4.21.**'de verilmiştir.

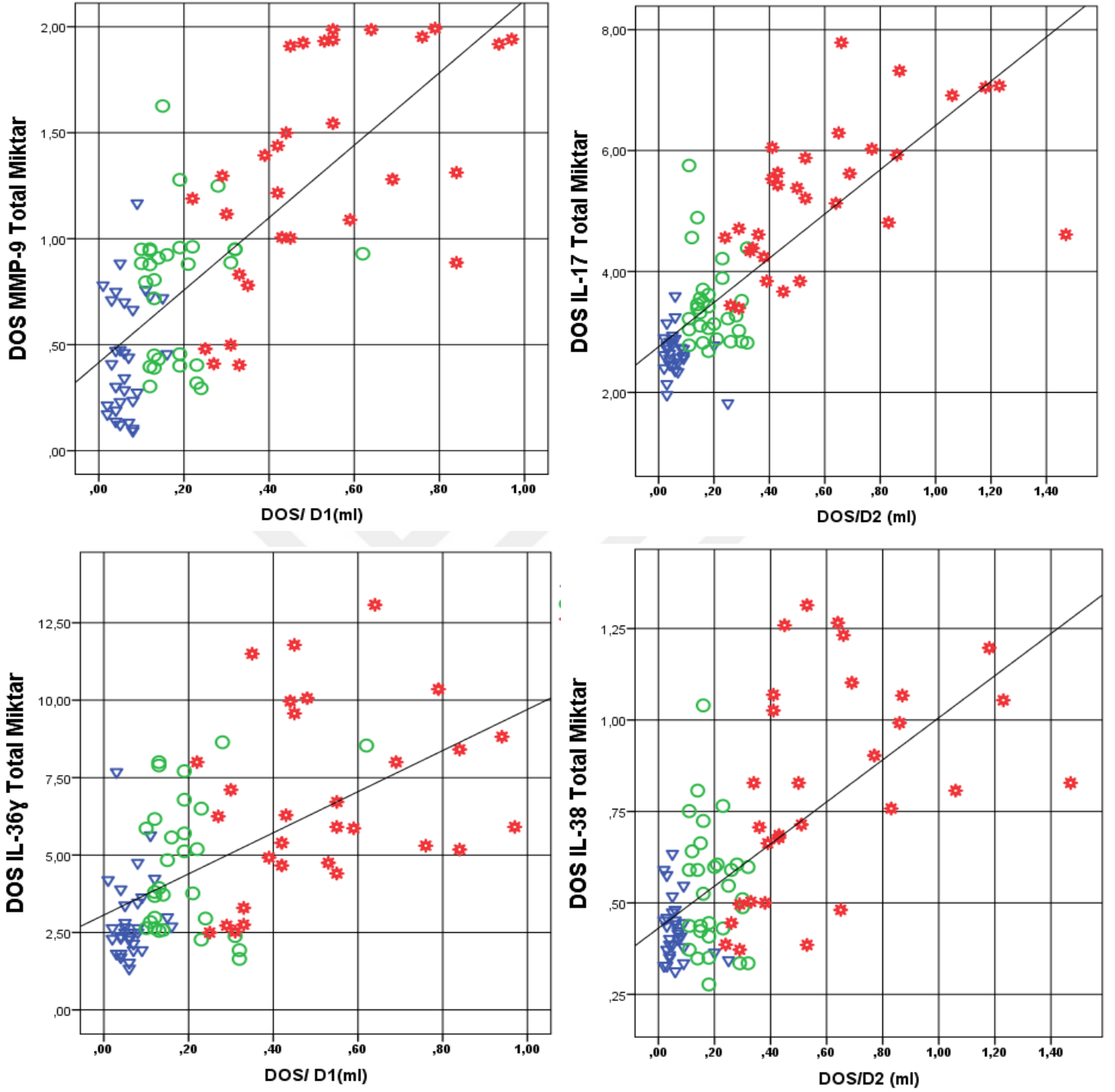
Tablo 4.16.Çalışma Geneli Biyokimyasal Verilerin Birbirileri ile Korelasyonları

<i>Biyokimyasal Parametreler</i>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1.DOS/ D1(ml)	r	1																	
	p	-																	
2.DOS/D2 (ml)	r	0,887**	1																
	p	<0,001	-																
<i>DOS Total Miktar</i>																			
3.DOS MMP-9	r	0,724**	0,714**	1															
	p	<0,001	<0,001	-															
4.DOS IL-17	r	0,812**	0,790**	0,662**	1														
	p	<0,001	<0,001	<0,001	-														
5.DOS IL-36γ	r	0,606**	0,593**	0,569**	0,640**	1													
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-													
6.DOS IL-38	r	0,572**	0,591**	0,648**	0,718**	0,518**	1												
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-												
<i>DOS Konsantrasyon</i>																			
7.DOS MMP-9	r	-0,632**	-0,495**	0,020	-0,432**	-0,244*	-0,151	1											
	p	<0,001	<0,001	0,827	<0,001	0,021	0,155	-											
8.DOS IL-17	r	-0,722**	-0,849**	-0,559**	-0,540**	-0,526**	-0,442**	0,463**	1										
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-										
9.DOS IL-36γ	r	-0,809**	-0,708**	-0,520**	-0,562**	-0,078	-0,384**	0,583**	0,563**	1									
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,463	<0,001	<0,001	<0,001	-									
10.DOS IL-38	r	-0,765**	-0,895**	-0,546**	-0,619**	-0,483**	-0,270**	0,498**	0,802**	0,630**	1								
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,010	<0,001	<0,001	<0,001	-								

Tablo 4.16 Devamı:

<i>Biyokimyasal Parametreler</i>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<i>Tükürük Konsantrasyon</i>																			
11.Tükürük MMP-9	r	0,543	0,535	0,481	0,454	0,37	0,315	-0,262	-0,504	-0,412	-0,472	1							
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	0,002	0,013	<,001	<,001	<,001	-							
12.Tükürük IL-17	r	0,771	0,709	0,563	0,679	0,398	0,398	-0,517	-0,604	-0,657	-0,636	0,499	1						
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	-						
13.Tükürük IL-36γ	r	0,649	0,603	0,591	0,62	0,555	0,518	-0,311	-0,489	-0,422	-0,432	0,567	0,596	1					
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	0,003	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	-					
14.Tükürük IL-38	r	0,58	0,52	0,379	0,539	0,345	0,332	-0,387	-0,433	-0,446	-0,435	0,388	0,608	0,52	1				
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	-				
<i>Serum Konsantrasyon</i>																			
15.Serum MMP-9	r	0,22	0,238	0,138	0,239	0,075	0,176	-0,143	-0,176	-0,21	-0,148	0,16	0,2	0,292	0,136	1			
	p	0,038	0,024	0,194	0,023	0,48	0,097	0,179	0,098	0,047	0,165	0,131	0,059	0,005	0,202	-			
16.Serum IL-17	r	0,626	0,588	0,554	0,696	0,512	0,448	-0,258	-0,499	-0,419	-0,509	0,471	0,487	0,465	0,486	0,222	1		
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	0,014	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	0,036	-		
17.Serum IL-36γ	r	0,543	0,564	0,523	0,635	0,526	0,563	-0,201	-0,48	-0,35	-0,402	0,461	0,442	0,488	0,339	0,271	0,665	1	
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	0,058	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	0,001	0,01	<,001	<,001	
18.Serum IL-38	r	0,65	0,627	0,567	0,7	0,385	0,54	-0,335	-0,542	-0,575	-0,516	0,463	0,576	0,518	0,44	0,177	0,742	0,63	1
	p	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	0,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	<,001	0,096	<,001	<,001	-

r: Spearman's Sıralı korelasyon testi p:Spearman's Rho korelasyon katsayısı için anlamlılık değeri



Şekil 4.21. DOS hacmi ile Biyokimyasal Verilerin DOS Total Miktar Seviyeleri ile Korelasyonu

Mavi ters üçgen: Sağlıklı grup, Yeşil çember: Gingivitis, Kırmızı yıldız: Periodontitis grubudur.

5.TARTIŞMA

Bu çalışma periodontal olarak sağlıklı, gingivitis ve periodontitisli bireylerin DOS, tükürük ve serum sıvılarında MMP-9, IL-17, IL-36 γ , ve IL-38 seviyelerinin belirlenmesi, karşılaştırılması ve bu sitokinlerin klinik parametreler ile olası korelasyonlarının değerlendirilmesi amaçlanarak kesitsel bir yöntem (cross-sectional) olarak tasarlandı.

Kesitsel çalışmalar; kısa sürede yapılabilmesi, takip sırasında hasta kaybı olmaması, az maliyet gereksinimi ile önemli bilgiler sunması, hastalık etiyolojisini anlama ve hipotez oluşturma için kullanışlı olması; tüm popülasyondan veriler toplandığı için sonucun yaygınlığını tahmin edilebilmesi ve birçok sonuç ve risk faktörünün değerlendirilebilmesi gibi avantajlarından dolayı tarafımızca tercih edildi (237).

Yıkıcı periodontal hastalıkların; genetik ve çevresel faktörler ile konak ve mikrobiyal faktörlerin etkileşiminin bir sonucu olarak ortaya çıktığı bilinmektedir (238). Mikroorganizmaların varlığı enflamatuvar periodontal hastalık için çok önemli bir faktördür ancak hastalığın ilerlemesi ve gelişimi; genetik, yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, sosyoekonomik faktörler ve bazı sistemik hastalıklar gibi konak temelli risk faktörleri ile ilişkili olması sebebiyle bireye özgüdür (239, 240). Bu sebeple çalışmaya dahil edilme kriterleri seçilirken hastalığın ilerlemesinden ve gelişiminden sorumlu çevresel ve kalıtsal risk faktörleri temel alınmıştır. Çünkü tüm periodontal hastalık formlarında sistemik faktörlerin normal immün-enflamatuvar savunma sistemi üzerinde değişiklik meydana getirdiği bilinmektedir (240). Genetik hastalıklar, kardiyovasküler hastalık, diyabet, romatoid artrit gibi hastalıkların periodontal hastalıkla yakından ilişkili olduğu yapılan çalışmalarca rapor edilmiştir (212, 241-243). Ayrıca DOS, tükürük ve serumda analiz edilen biyolojik belirteç seviyelerinin hamilelik, emzirme, sigara kullanımı, antibakteriyel ve antienflamatuvar ilaç kullanımı gibi çeşitli faktörlerden etkilendiği bilinmektedir (244-249). Çalışmalarda hamilelik ve laktasyon döneminde DOS seviyelerinde artış ve periodontal hastalığa bağlı gelişen doku yanıtında sağlıklı bireylere göre farklılık gözlenmektedir (250, 251). İlgili olarak sigara içen hastalarda DOS içeriğindeki sitokin seviyeleri (IL-4, IL-6, IL-8 vb.) ve serum antikor seviyelerinin (IgG, IgA) sigara içmeyen hastalara göre farklılık gösterebildiği; (252-254) sigara içen bireylerin sigara içmeyenlere göre anlamlı derecede daha az periodontal sağlığa sahip olduğu; sigara içen bireylerde ataçman

kaybı ve diş eti çekilmesinin belirgin hale geldiği rapor edilmiştir (252-255). Sistemik antienflamatuvar ilaç ve antibiyotik kullanımı da periodontal dokuların inflamasyon derecesini ve periodontal hastalıklar nedeniyle meydana gelen doku yıkımını azaltıcı etkiler göstermektedir (248, 256-258). Bu sebeple sigara içen ve son 6 ay içerisinde antibiyotik ve antienflamatuvar ilaç kullanımı olan bireyler ile sistemik hastalık/durumlara sahip bireyler çalışmaya dahil edilmedi.

5.1.Klinik Parametre Bulgularının Tartışılması

Periodontal hastalıkların tanısında geleneksel olarak bireylerin sistemik ve dental muayenelerinden; Pİ, Gİ, SCD, KAS, SK(%)’yı içeren klinik periodontal ölçümler ve radyografik incelemelerden yararlanılmaktadır (259).

İyi bir ağız hijyeni, periodontal sağlığın elde edilmesi ve sürdürülmesinde en önemli faktör olmaya devam etmektedir (25). Bu çalışmada; basit ve periodontolojide en sık kullanılan ağız hijyeni belirleme yöntemlerinden olması sebebiyle Pİ (Silness&Löe) kullanılmıştır (260). Literatürde sağlıklı, gingivitis ve farklı yıkım paternlerine sahip periodontitisli bireylerin çalışma ve kontrol grubu olarak tanımlandığı çalışmalara bakıldığında, plak indeks skorlarının sağlıklı gruplarda en düşük; yıkım şiddetinin fazla olduğu periodontitis gruplarında en yüksek; S, G ve P grupları arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı fark görüldüğü rapor edilmiştir (69, 260-264). Bu çalışmaya dahil edilen bireylerin PI değerlendirilmelerine bakıldığında, periodontitis grubunun ($1,44 \pm 0,64$) gingivitis ($0,63 \pm 0,34$) ve sağlıklı gruba ($0,29 \pm 0,23$) göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. Aynı şekilde G grubu ile S grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,001$). Periodontitis alt gruplarına bakılacak olursa P3 grubunda ($1,65 \pm 0,86$) en yüksek olup gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

Gingival İndeks diş etinde renk, kıvam ve kanamayı gösterirken, mevcut inflamasyonun şiddeti hakkında bilgi verir (225, 265). Silness-Löe gingival indeksi (GI) tüm ağızdaki diş etleri hakkında bilgi vermesi ve kolay uygulanabilirliğinden dolayı bu çalışmada tercih edilmiştir. Literatürde sağlıklı, gingivitis ve farklı yıkım paternlerine sahip periodontitisli bireylerin deney ve kontrol grupları olarak tanımlandığı çalışmalara bakıldığında; gingival indeks skorlarının sağlıklı grupta tüm hastalık gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük olduğu, periodontitis grubunda

gingivitis grubu ile anlamlı fark olmamasına rağmen daha yüksek gingival indeks skorları görüldüğü ve farklı yıkım şiddeti olan periodontitis gruplarının benzer gingival skorlara sahip olduğu rapor edilmiştir (266-270). Bu çalışmada da benzer şekilde S grubunun ($0,17\pm0,11$) Gİ skorları diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuş olup P grubunda en yüksek skorların tespit edilmesiyle beraber P ($1,01\pm0,39$) ve G ($0,84\pm1,01$) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$).

Sondlamada cep derinliği, KAS ve SK parametreleri periodontal hastalığın geçmişi ve mevcut hastalık durumu hakkında bilgi sağlayan periodontal hastalıkların epidemiyolojisinde kullanılacak en iyi göstergelerdendir (271-273).

Emingil ve ark'nın GAP, KP, gingivitis ve sağlıklı kontrollerde DOS endotelyal monosit aktive edici protein düzeylerini araştırdığı bir çalışmada GAP ve KP grubunda gingivitis ve sağlıklı gruba göre anlamlı düzeyde daha yüksek KAS ve SCD ölçümleri raporlanmıştır. Ayrıca örnek alınan dişlerde SK% sağlıklı gruptan yüksektir (274).

Ertuğrul ve ark. periodontal olarak sağlıklı bireylerde klinik periodontal parametrelerin (SCD, SK ve KAS) çeşitli şiddetlerdeki periodontitis gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde daha düşük skorlara sahip olduğunu bildirmiştir (275).

Papathanasiou ve ark'nın sağlıklı gingivitis ve periodontitis gruplarının diş eti oluşu sıvısında yaptıkları bir çalışmada SCD ve KAS bakımından gingivitis ve sağlıklı grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmezken periodontitis grubunda her iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek sonuçlar bildirilmiştir (270).

Bu çalışmada S ve G grubunun SCD ve KAS ortalaması tüm periodontitis alt gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük izlenirken, S ve G grubunda sonuçlar benzerdir ($p>0,05$). SK(%) değerlerinin ortalamalarına bakılacak olursa S grubunda SK (%) tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür ($p<0,001$). G grubu ile P grupları kıyaslandığında tüm P gruplarında SK (%) istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek tespit edilmekle beraber P grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$).

DOS örneği alınan dişlere ait klinik parametrelerin hepsi ile tüm ağız ortalama klinik parametreler arasında ise istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere orta ve yüksek pozitif korelasyon vardı.

Tüm çalışma geneli klinik parametrelerin gruplar arası değerlendirmelerinin sonucunda bulguların literatürle uyumlu olduğu görölmüştür. Fakat yapılan çalışmalarda klinik değerlendirmelerin hastalık aktivitesini ve periodontal hastalığa yatkınlığı belirlemede yetersiz kaldığı, periodontal hastalığın yalnızca anlık durum ile ilgili bilgi verdiği ifade edilmiştir (193, 276). Dolayısıyla periodontal hastalık tanısının, henüz sert doku kaybı olmadan önce ortaya koyulabilmesi veya var olan doku kaybının zaman içindeki değişiminin tam anlamıyla izlenebilmesi; konak doku yanıtının laboratuvar yöntemleriyle analizi vasıtasıyla sağlanabileceği düşünülmektedir. Günümüzde tıbbın birçok alanındaki araştırmacılar, yaygın klinik hasar oluşmadan önce hastalık sürecinin varlığını gösterebilecek; yüksek özgünlük ve duyarlılığa sahip, hasta başı kullanıma uygun ideal bir tanı belirteci arayışı içindedirler (277, 278). Benzer yaklaşımla bu çalışmada sağlıklı kontroller ve farklı periodontal hastalık gruplarına ait DOS, tükürük ve serum sıvılarındaki enflamatuvar belirteçlerin araştırılması hedeflendi.

5.2 Çalışma Gereçlerinin Tartışılması

Periodontal hastalık aktivitesini ölçmek amacıyla izlenen enflamatuvar belirteçlerin tespitinde DOS'un ideal bir biyolojik sıvı olduğu önceki çalışmalarda vurgulanmıştır (252, 279, 280). DOS; periodontal hastalıklarda lokal yıkım alanında bulunma, kolay ve tekrarlanabilir bir şekilde toplanabilme gibi avantajları nedeniyle bu çalışmada tercih edildi (281).

DOS toplama yöntemi olarak tek tek her bölgeye uygulanabilir olması, doğru uygulandığında en az travmatik yöntem olması, uygulama kolaylığı ve çabukluğu sunması sebebiyle oluk içi yöntem tercih edildi (189). Kinney ve ark.'nın DOS sitokin seviyelerini incelediği bir çalışmada bu yöntem için metilselüloz kağıt filtreler kullanıldığı bildirilmiştir (282).

Kağıt filtrelerin emdiği DOS hacminin hesaplanabilmesi için yapılan çalışmalara bakıldığında; Cimasoni ve Weinstein'in ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda, DOS hacmi hesaplanabilmesi için ninhidrinle boyanmış kağıt filtreler kullanılmış veya örnek alınmadan önce hastalara fluruoserin verilerek filtreler ultraviyole ışık altında incelemiştir (283, 284). Ancak bu teknikler toplanan DOS örneği bileşiminin biyokimyasal analizini engellediği için (191), sonraki çalışmalarda Periotron® cihazı kullanılarak DOS hacmi kantitatif olarak tayin edilmiştir (189, 285, 286).

Bu cihazlar geçmişten günümüze Periotron 6000 (102), Periotron 8000 (287) ve Periotron 8010 (288) olmak üzere geliştirilerek kullanılmıştır. Bu çalışmada da benzer şekilde DOS emdirilmiş kağıt filtreler en son sürüm olan Periotron 8010® cihazında ölçüldü ve cihazın verdiği skor kalibrasyon eğrisi vasıtasıyla µl birimine çevrildi (231).

DOS toplanması için ideal örnekleme süresi henüz saptanamamıştır. Örnekleme süreleri ile ilgili olarak literatürde 3 sn (289), 5 sn (229, 289), 15 sn (252, 290), 20 sn (291), 25 sn (292), 30sn (293), 1 dk (294), 90 sn (295) ve 2 dk (293) gibi süreler göze çarpmaktadır. Yine ilgili araştırmalar incelendiğinde süre konusunda herhangi bir bilgi vermeyen veya görsel olarak belli bir DOS miktarı elde edilene kadar örneklemenin devam ettirildiği gibi sonuçlara ulaşılmaktadır (296, 297). Ancak genel görüş örnekleme süresinin uzatılmasının mekanik irritasyon ve kontaminasyon riskini artıracak ve DOS protein kompozisyonunu değiştireceği yönündedir (189, 293). Bu çalışmada; DOS örnekleri için örnekleme süresi bölgede DOS akışında artışa yol açacak irritasyon yaratmaksızın yeterli miktarda toplanabilmesi amacıyla 30 sn olarak belirlendi (298).

DOS hacmi ve içeriğinin periodontal dokuların sağlık ve hastalık durumundan etkilendiği bilinmektedir (9, 180, 190). Trombelli ve ark.'nın deneysel gingivitis oluşturulan test ve kontrol grupları üzerinde yaptığı çalışmada; plak birikimine karşı yüksek duyarlılık gösteren bireylerin, daha az duyarlı bireylere göre anlamlı düzeyde daha yüksek DOS hacmine sahip olduğu rapor edilmiştir (9).

Bavulacque ve ark.'nın periodontal olarak sağlıklı ve periodontal hastalıklı dişlerin ve implantların oluk sıvılarını karşılaştırdığı bir çalışmada; DOS hacimlerinin hastalıklı alanlarda anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (230). Bu doğrultuda, bu çalışmada da farklı hastalık gruplarına ait DOS hacimlerinin gruplar arası karşılaştırması yapıldı.

Çalışmada incelenen biyokimyasal parametreler DOS total miktar ve konsantrasyon cinsinden verildi (299). DOS içeriğindeki sitokin seviyelerinde meydana gelen değişimleri değerlendirmede total miktarın konsantrasyon miktarından daha anlamlı bir sonuç birimi olduğu düşünülmektedir (204). Çünkü, DOS konsantrasyonu DOS hacminden doğrudan etkilenmekte ve periodontal hastalık durumunda DOS hacminin klinik bulgu olarak artmasıyla incelenen sitokin ve enzimlerin DOS konsantrasyonu

azalabilmektedir (190, 300). Bu çalışmada da hasta ve sağlıklı gruplarda ölçülen sitokinlerin DOS total miktarı ve DOS konsantrasyon düzeyleri arasında benzer şekilde ters korelasyon söz konusudur.

Literatürde DOS hacmi ile periodontal inflamasyon ve klinik periodontal parametreler arasında pozitif korelasyon olduğu (186, 263, 293, 301-303) ve periodontal tedavi sonrası DOS hacminin azaldığı bildirilmiştir: (249, 288, 304)

Becerik ve ark. DOS hacminin periodontal olarak sağlıklı ($0.33\pm0.22\mu\text{l}$), gingivitis ($0.58\pm0.26\mu\text{l}$) ve KP ($0.71\pm0.18\mu\text{l}$) grupları arasında incelendiği bir çalışmada tüm gruplar arasında anlamlı fark rapor etmişlerdir (298).

Egelberg ve ark. yapmış olduğu çalışmada ise DOS hacmi ile periodontal inflamasyon bulguları arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (186).

Bu çalışmaya bakıldığında DOS hacim ortalamaları literatürle uyumlu olarak S grubunda ($0,06\pm0,03$) G ($0,19\pm0,06$) ve P ($0,65\pm0,40$) grubuna kıyasla istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük izlenmiştir. G grubu ile tüm P grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ve P grubunda en yüksek DOS hacmi ölçülmüştür ($p<0,001$). Bununla beraber periodontitis alt grupları arasında en yüksek hacim P3 grubunda ($0,97\pm0,43$) izlenirken gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Ek olarak DOS hacmi ile tüm klinik parametreler (PI,GI,SCD,KAS,SK) arasında ise yüksek pozitif korelasyon söz konusudur ($r=0,704-0,762$).

Tükürük analizi; ağızdaki lokal patolojik değişiklikleri iyi gösteren, kan dolaşımından köken alan bileşenlere sahip; düşük maliyetli, invaziv olmayan ve nispeten basit bir teknik olduğu için bu çalışmada tercih edildi (197, 305). Tükürük örnekleri ağız içerisinden tam tükürük veya belirlenen tükürük bezlerinden parsiyel tükürük olarak alınabilmektedir (232, 306). Tam tükürük incelemesinin parsiyel tükürük toplanmasına göre DOS'dan gelen sitokinleri ve doku metabolitlerini içermesi gibi avantajları vardır (307).

Henskens ve ark'nın; gingivitis ve periodontitis grubunda tükürük protein konsantrasyonlarını tam ve parotis kaynaklı parsiyel tükürük toplama yöntemleriyle karşılaştırıldığı bir çalışmada tam tükürük yönteminde daha yüksek protein konsantrasyonları tespit edilmiştir (308). Bu araştırmada bahsedilen avantajlarından dolayı çalışma gruplarından tam tükürük örnekleri toplanmıştır.

Tükürük örnekleri uyarılmış ve uyarılmamış tükürük olarak alınabilmektedir (309). Yapılan çalışmalarda uyarılmış tükürükte akış hızının artmasıyla tükürük içeriğinin dilüe olması ve buna bağlı olarak tükürük içeriğinde konsantrasyon değişimi olabileceği; ayrıca oluşan pH değişikliği sebebiyle bazı bileşenlerin içeriğinin etkilenebileceği bildirilmiştir (233, 307, 310). Bu doğrultuda bu çalışmada uyarılmamış tükürük örnekleri toplanmıştır. Uyarılmamış tükürük akış hızının etkilendiği birçok faktör vardır: Bireyin hidrasyon durumu, ışığa maruziyet, koku, günün hangi saati olduğu, yeme-içme ve oturma pozisyonu da tükürük akış hızını değiştiren etkenlerdir (232, 307).

Shannon ve ark. yaptığı bir çalışmada ayakta örnek veren bireylerin tükürük akış hızının; oturur pozisyonda alınan örneklerle göre daha fazla olduğu, yatar pozisyonda ise en düşük olduğu tespit edilmiştir (311). Bu sebeple bu çalışmada tükürük örnekleri en az 1 saat yememiş ve içmemiş deneklerden, oturur pozisyonda iken başları hafif öne eğik olacak şekilde, sabah saatlerinde toplandı.

Tükürük örneklerinin toplanmasında boşaltma metodu, tükürme metodu, aspirasyon metodu ve absorbasyon metodu olmak üzere çeşitli yöntemler vardır: (312) Michishige ve ark'nın; aspirasyon, tükürme ve absorbasyon yöntemlerini karşılaştırdığı bir çalışmada tükürme metodunun uyarılmamış tükürük eldesi için daha uygun olduğu rapor edilmiştir (313).

Nawazesh ve ark'nın; toplama yöntemlerini karşılaştırdığı çalışmada; uyarılmamış tam tükürük eldesi için ideal yöntem olarak irritasyona yol açmadan hacim elde edilebilmesi sebebiyle “tükürme metodu” ve “boşaltma metodu”nun uygun olduğu bildirilmiştir (233). Bu sebeple bu çalışmada tükürme metodu ile örnekleme yapılmıştır.

Periodontal inflamasyonun sistemik etkilerinin araştırıldığı çalışmalara bakıldığında; serum veya plazma sıvılarının analizi vasıtasıyla periodontitisle ilişkili pekçok sitokin, akut faz proteini, bakteriyel virülans faktörü ve doku yıkım ürününün sistemik dolaşıma geçerek uzak organlardaki immün yanıtı tetikleyebildiği tespit edilmiştir (23, 86, 155, 211, 213, 314, 315).

Andrukhov ve ark'nın sağlıklı ve periodontitisli bireylerde serum sitokin seviyelerinin karşılaştırıldığı çalışmada gruplar arasında anlamlı düzeyde fark bildirilmiştir (316).

Gümüş ve ark.'nın sağlıklı, KP ve GAP gruplarında serum IL-1 β ve pentraxin düzeylerinin incelediği bir çalışmada periodontitis gruplarının serum düzeylerinin sağlıklı gruba nazaran anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (317).

Literatürde periodontal inflamasyonun halihazırda var olan kronik inflamasyonun yükünü artırdığı da rapor edilmiştir: Bu bağlamda kronik sistemik hastalıkları bulunan bireylerin hastalıklarına ek olarak periodontitisi olan bireylerle karşılaştırıldığı çalışmalarda; periodontitisli bireylerde çeşitli sitokinler, akut faz proteinleri ve bakteriyel virülans faktörlerinin daha yüksek konsantrasyonlarda seyrettiği ifade edilmiştir (318-320). Bu sebeple çalışmamızda DOS ve tükürük ile beraber serum sıvısı da incelendi.

Serum örneklerinin saklanması üzerine yapılan çalışmalarda örnekler farklı sıcaklık derecelerinde farklı saatler boyunca saklandığında serum kompozisyonunda değişimler ve bozulmalar olduğu bildirilmiştir: Bu çalışmaların birinde 4 ve 6 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilen örneklerde herhangi bir değişim gözlenmezken 8 saat sonra belirgin değişiklikler izlenmiştir (321). Aynı şekilde +4°C'de 24 saat bekletilen örneklerde bozulma izlenmezken süre 48 ve 96 saate uzatıldığında önemli değişiklikler gözlenmiştir (322). Serum ve plazma örneklerinin uzun süreli depolama durumlarında -20 ve -80 °C arasında farklılık bildirilmemesine rağmen çalışmamızda örnekler -80 °C'de saklandı (323).

Tüm biyokimyasal analizler ELİSA yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. ELİSA, kompleks ve pahalı ekipmana ihtiyaç olmadan bir analitin tespiti, kantitatif ve kalitatif analizi için kullanılan spesifik bir biyokimya testidir (324). Literatüre göre birçok çalışmada periodontal hastalıkla ilişkili sitokin, enzim ve proteinin DOS, tükürük ve serumda ELİSA ile değerlendirildiği bildirilmiştir (325-328). Bu nedenle çalışmamızda biyokimyasal analiz için ELİSA yöntemi kullanıldı.

ELİSA analizinde direkt, indirekt, sandwich ve kompetitif olmak üzere birden fazla ELİSA protokolü vardır. Tespit edilecek antijen küçük miktarlarda olduğunda, antijenin fizikokimyasal özellikleri kuyucuklara yeterli yapışmaya izin vermediğinde veya numuneler birden fazla protein içerdiğinde double-sandwich protokolü yaygın olarak kullanılır çünkü daha sensitiftir (329). Bu çalışmada bahsedilen sebeplerden ötürü double-sandwich protokolü izlendi.

5.3 Biyokimyasal Bulguların Tartışılması

MMP-9 Düzeylerinin ve Klinik Parametrelerle Korelasyonlarının Tartışılması

Polimorfonükleer nötrofiller insan periodontitisinde (330) önemli bir MMP-9 kaynağı olarak kabul edilmiştir ve periodontal doku yıkımı DOS'ta yüksek seviyelerde aktif MMP-9 ile ilişkilendirilmiştir (331). Literatürde MMP-9'un incelendiği hücre kültürü çalışmalarında periodontitis lezyonlarından alınan örneklerde yüksek MMP-9 ekspresyonları bildirilmiştir (95). DOS MMP-9 total miktar ve konsantrasyon düzeylerinin farklı periodontal hastalıklara sahip bireyler ve sağlıklı kontrollerde ELİSA ile araştırıldığı çalışmalar incelenmiştir (97, 102, 103, 282, 332-340).

Victor ve ark; sağlıklı ve periodontitisli bireylerin DOS MMP-9 miktarlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada P grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek MMP-9 seviyeleri bildirilmiştir (339).

Maeso ve ark.'nın sağlıklı gingivitis ve periodontitis gruplarında DOS MMP-2 ve -9 düzeylerini karşılaştırdığı çalışmaya göre ise periodontitis grubunda anlamlı fark olmasa da daha yüksek MMP-9 seviyeleri olduğu bildirilmiştir (341).

Ingman ve ark.'nın 11 sağlıklı kontrol, 17 yetişkin periodontitis, 6 lokalize juvenil periodontitis'li bireyde DOS MMP-9 düzeylerini ELİSA ile incelediği bir çalışmada yetişkin periodontitis grubunda her iki gruba nazaran anlamlı düzeyde yüksek MMP-9 konsantrasyonları bulunmuştur (334).

Marraccini ve ark. MMP-9'un aktif ve pasif formlarını sağlıklı ve KP'li bireylerde ELİSA yöntemiyle incelemişler ve istatistiksel olarak önemli bir fark olmamasına rağmen her iki MMP-9 formunun da KP grubunda daha yüksek miktarlarda tespit edildiği bildirilmiştir (102). İlgili çalışmada gruplar arasında fark izlenememesine sebep olarak kontrol grubuna dahil edilen birey sayısının (n=8) sınırlı olması gösterilebilir.

Bu çalışmada DOS total miktarları açısından sağlıklı ($0,45 \pm 0,28$) gingivitis ($0,78 \pm 0,33$) ve periodontitis ($1,34 \pm 0,53$) grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde fark gözlemlendi ($p < 0,001$). En yüksek MMP-9 seviyeleri P3 grubunda izlendi; P2 ve P3 grupları arasında fark gözlenmez iken P1 grubu ile hem P2 hemde P3 arasında anlamlı fark saptandı.

MMP-9 DOS total miktarları ve örnek alınan dişlere ait periodontal klinik parametreler ile korelasyonlarının değerlendirildiği çalışmalara bakıldığında; grup içi ve gruplar arasında olmak üzere SCD, KAS ve SK(%) ile DOS MMP-9 arasında pozitif korelasyonlar bildirilmiştir (102, 335, 337).

Rai ve ark; DOS MMP-9 düzeyleri ile SCD ile istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere düşük, klinik ataçman kaybı ve SK(%) ile orta düzey pozitif korelasyon bildirmişlerdir (337). Bu çalışmada da DOS hacmi ($r=0,724$) SCD ($r=0,61$) KAS ($r=0,604$) ile DOS total miktarları arasında istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere yüksek pozitif korelasyon; GI ($r=0,588$) ve PI ($r=0,586$) ile orta; SK (%) ($r=0,382$) ile düşük pozitif korelasyon izlendi.

Rai ve ark'nın (2008) sağlıklı, gingivitis ve periodontitis gruplarında DOS MMP-9 ve MMP-2 konsantrasyon düzeylerini karşılaştırdığı çalışmaya göre periodontitis ve gingivitis gruplarında sağlıklı gruba nazaran anlamlı düzeyde yüksek konsantrasyonlar bildirilmiştir (337).

Rai ve ark. (2010) sağlıklı ve periodontitis gruplarında DOS MMP-9 düzeylerini karşılaştırdığı çalışmaya göre de MMP-8 ve MMP-9 konsantrasyon düzeyleri periodontitis grubunda sağlıklı kontrollere göre anlamlı düzeyde yüksek çıkmıştır (336).

Bu çalışmada ise DOS MMP-9 konsantrasyonları DOS total miktarıyla zıt olarak en yüksek S grubunda en düşük ise P3 grubunda izlenmiştir, gruplar arası anlamlı fark rapor edilmiştir ($p<0,001$). Konsantrasyon miktarlarının Rai ve ark'nın çalışmasında sağlıklı grupta düşük olması bu çalışmanın bulguları ile tutarsızlık göstermektedir. Rapor edilen sonuçlarla alakalı olarak ilgili çalışmalarda çalışma gruplarına ait DOS hacmi ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanılmamıştır.

Tükürük MMP-9 konsantrasyon seviyeleri ile periodontal hastalık ilişkisi hakkında rapor edilmiş çalışmalara bakıldığında: Kushlinskii ve ark'; 63 sağlıklı ve düşük, orta ve ileri periodontitisli 82 bireyin tükürük MMP-9 düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ileri periodontitisli bireylerde tükürük MMP-9 düzeyi sağlıklı kontroller ve diğer periodontitis gruplarında nispeten daha yüksek olmasına rağmen gruplar arası anlamlı fark izlenememiştir. Fakat ileri periodontitis grubundaki tükürük MMP-9 ile SCD arasında çok yüksek pozitif korelasyon bildirilmiştir (342).

Gürsoy ve ark.; 81 sağlıklı 84 generalize KP hastasında MMP-9 konsantrasyonlarını değerlendirildiği bir çalışmada; KP grubunda MMP-9 düzeyleri sağlıklı gruptan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiştir ($p<0,001$) (343).

Ramseir ve ark.'nın sağlıklı(A), gingivitis(B) düşük(C) ve orta-ileri(D) periodontitis gruplarında MMP-9 düzeylerinin incelendiği bir çalışmada; sağlıklı ve orta-ileri periodontitis grupları kıyaslandığında orta-ileri periodontitis grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tükürük MMP-9 konsantrasyonları rapor edilmiştir (344).

Nedzi-Gora ve ark.'nın.; $6\text{mm} \leq \text{SCD}$ ve $6\text{mm} > \text{SCD} > 4\text{mm}$ olan periodontitis hastaları ve sağlıklı kontrollerde tükürük MMP-9 düzeylerini incelediği bir çalışmaya göre; $6\text{mm} \leq \text{SCD}$ olan grup ile sağlıklı grup arasında anlamlı fark bildirilmiştir. Fakat $6\text{mm} > \text{SCD}$ olan grup ile hem sağlıklı arasında ve hem de $6\text{mm} \leq \text{SCD}$ grup arasında MMP-9 miktarları bakımından (en düşük değer sağlıklı, en yüksek değer $6\text{mm} > \text{SCD}$ olmak üzere) anlamlı fark bildirilmemiştir (345).

Bu çalışmada da literatürle uyumlu olarak tükürük MMP-9 düzeyleri sağlıklı gruptan periodontitis grubuna doğru ataçman kaybıyla korele şekilde en yüksek P3 grubunda en düşük S grubunda ölçüldü. MMP-9 konsantrasyonu S, G ve P1 gruplarında benzer seviyelerde olmakla beraber P2 ve P3 grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük saptandı. P2 ve P3 grupları arasında ise anlamlı fark izlenemedi.

Tükürük MMP-9 konsantrasyonları ile tüm ağız klinik parametreler arasındaki korelasyonların incelendiği çalışmalara bakıldığında Gürsoy ve ark.; istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere SCD ile MMP-9 arasında düşük seviye pozitif korelasyon bildirilmişlerdir (343).

Kushlinskii ve ark. düşük, orta ve ileri periodontitis gruplarında grup içi klinik parametreler ile tükürük MMP-9 ilişkisini incelediği bir çalışmada ise PI ile MMP-9 arasında tüm gruplarda istatistiksel açıdan anlamlı fark olmayıp pozitif korelasyon bildirilirken, SCD ile istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere düşük-orta şiddetli periodontitis grubunda düşük korelasyon; ileri periodontitis grubunda çok yüksek pozitif korelasyon bildirilmiştir (342). Bu çalışmada da tükürük MMP-9 konsantrasyonları ile tüm ağız klinik parametreler arasındaki korelasyonlara bakıldığında; istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere PI, GI ve SK (%) ile düşük

($r=0,353-0,378$); SCD ve KAS ile orta düzey ($r=0,444-0,449$) pozitif korelasyon izlendi.

Serum MMP-9 konsantrasyon seviyelerinin sağlıklı ve periodontal hastalıklı gruplarda ELİSA ile incelendiği çalışmalara bakıldığında; Li ve ark; 122 KP, 588 sağlıklı bireyde çoklu sitokin ve MMP konsantrasyonlarını incelediği bir çalışmada; MMP-9 konsantrasyon seviyelerinin KP grubunda ($11,65\pm2,17$) sağlıklı kontrollerden ($2,17\pm1,97$) anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir (346).

Marcaccini ve ark'nın KP ve sağlıklı bireylerde plazma MMP-9 düzeylerinin değerlendirildiği çalışmada; KP grubunda MMP-9 konsantrasyonu sağlıklı kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek rapor edilmiştir ($p<0,001$) (347).

Virtanen ve ark'nın serum MMP-9 konsantrasyonlarını incelediği 51 KP, 39 sağlıklı bireyde gruplar arası istatistiksel açıdan benzer MMP-9 konsantrasyonları rapor edilmiştir (348).

Bu çalışmada da serum MMP-9 konsantrasyonları sağlıklı ($0,24\pm0,11$), gingivitis ($0,29\pm0,13$) ve periodontitis grupları arasında karşılaştırma yapıldığında en yüksek P3($0,35\pm0,18$) grubunda tespit edilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p=0,155$). Bu durumun sebebi olarak MMP'lerin aktif alveoler kemik rezorpsiyonu sırasında diş eti bağ dokusunun yıkıcı enzimi olarak nispeten lokal kalabileceği ve hasta gruplarda inflamasyon varlığını işaret etse de sistemik olarak anlamlı düzeyde fark yansıtamadığı düşünülmektedir.

Literatürde serum MMP-9 ile periodontal klinik parametreler arası korelasyonlara bakıldığında bir çalışmaya rastlanmıştır: Türkoğlu ve ark. istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla beraber PI, SCD ve KAS ile serum MMP-9 ile pozitif korelasyon bildirirken, SK%) ile herhangi bir korelasyon rapor edilmemiştir (349). Bu çalışmada ise istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere yalnızca PI ile orta düzey pozitif korelasyon ($r=0,474$) izlenirken GI, SCD, KAS ve SK (%) ile serum MMP-9 istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilemedi ($p>0,05$).

IL-17 Düzeylerinin ve Klinik Parametrelerle Korelasyonlarının Tartışılması

İnsan ve hayvan modeli çalışmalarından elde edilen mevcut kanıtlar; IL-17 sinyalizasyonunun net etkisinin hastalık gelişimini desteklediğini göstermektedir (136). Literatürde DOS IL-17 seviyelerinin; periodontal sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerde ELİSA ile araştırıldığı çalışmalar incelenmiştir (300, 350-375). S, G ve çeşitli periodontitis gruplarında DOS IL-17 total miktar seviyelerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda IL-17 seviyelerinin sağlıklı kontrollerde daha düşük olduğu ve periodontitis şiddetiyle arttığı tespit edildi (150, 359, 365, 370, 376).

Vernal ve ark.'nın 8 orta ve ileri KP'li ve 8 sağlıklı bireyde DOS IL-17 seviyelerini karşılaştırdığı bir çalışmanın sonuçları incelendiğinde; DOS IL-17 total miktarlarının periodontitis grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu görülmüştür (370).

Çiftçi ve ark.'nın 19 generalize agresif periodontitis (GAP) ve 22 sağlıklı bireyde DOS IL-17 seviyelerini araştırdığı çalışmada benzer şekilde IL-17 total miktarlarının GAP grubunda istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir (376).

Shaker ve Ghallab'ın 25 kronik periodontitis 25 GAP ve 15 sağlıklı bireyin DOS'unda IL-17 total miktarlarını araştırdığı bir çalışmada; IL-17 total miktarlarının GAP grubunda KP ve sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunduğu ve KP grubunda da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sağlıklı kontrollerden daha yüksek miktarlarda olduğu belirtilmiştir (150).

Miranda ve ark.'nın generalize evre III-IV derece B/C periodontitise sahip 112 birey 448 DOS örneği üzerinde yaptığı geniş kapsamlı sitokin çalışmasında IL-17 total miktarının derin ceplerde (SCD> 5mm, SK+) sığ ceplere(SCD<3 mm, SK-) nazaran daha yüksek olduğu bildirilmiştir.(359)

Ay ve ark.'nın IL-17 total miktarlarını; 20 GAP, 18 sağlıklı kontrol üzerinde araştırdığı çalışmada ise; IL-17 total miktarları istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber GAP periodontitis grubunda daha düşük miktarlarda bildirilmiştir (300).

Ancak bu çalışmada Ay ve ark.'nın çalışmasından farklı ve diğer çalışmalarla uyumlu olarak sağlıklı bireylerin IL-17 miktarları sağlıklı ($2,65 \pm 0,35$), gingivitis ($3,44 \pm 0,66$) periodontitis grupları karşılaştırıldığında ($5,29 \pm 1,19$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde periodontitis grubunda en yüksek değerler tespit edildi ($p < 0,001$). Ayrıca P3

grubunda tüm periodontitis gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere daha yüksek IL-17 total miktarları görüldü. Bu çalışmanın sonuçlarının Ay ve Ark'nın çalışmasından farklı izlenmesinin nedeninin nötrofil fonksiyonlarında defekt görülen GAP hastalarının bu çalışmaya dahil edilmemesi olarak düşünülmektedir.

IL-17 konsantrasyon düzeylerinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde ise; Shaker ve Ghallab'ın DOS IL-17 miktarlarını konsantrasyon cinsinden değerlendirdiği çalışmasında; IL-17 konsantrasyon seviyesinin sağlıklı grupta agresif ve kronik periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek, GAP grubunda ise en düşük değerlerde olduğu bildirilmiştir. KP ve GAP grupları arasında da DOS hacimleri bakımından fark olmasa da IL-17 konsantrasyon düzeyleri bakımından istatistiksel açıdan anlamlı fark rapor edilmiştir (150).

Ay ve ark IL-17 düzeylerinin konsantrasyon cinsinden incelediği çalışmada; benzer şekilde IL-17 sağlıklı grupta GAP grubuna nazaran istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha yüksek 17 konsantrasyon seviyeleri bildirilmiştir (300).

Sadeghi ve ark'nın 10 KP, 12 GAP, 10 sağlıklı kontrol üzerinde DOS IL-17 düzeyinin konsantrasyon cinsinden araştırdığı çalışmada da IL-17 konsantrasyonu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde en yüksek sağlıklı grupta, en düşük ise agresif grubunda izlenmiştir. Ancak KP ve agresif grubunda istatistiksel açıdan fark yoktur (365).

Bu çalışmada da diğer çalışmalarla uyumlu olarak DOS IL-17 konsantrasyon düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde en yüksek sağlıklı grupta en düşük ise ataçman kaybıyla ters orantılı olarak P3 grubunda izlendiği görüldü ($p<0,001$).

DOS IL-17 ile klinik parametreler arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; PI, GI, SCD, KAS, SK(%) ve DOS hacmi ile DOS IL-17 total miktar ve konsantrasyonları arasında herhangi bir korelasyon tespit edilemeyen çalışmalar bulunmaktadır (300, 353, 365, 374, 376, 377).

Miranda ve ark. ile Buduneli ve ark.'nın ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda ise sırasıyla DOS hacmi, KAS ve GI ile DOS IL-17 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon bildirilmiştir (352, 359).

Bu çalışmada ise DOS IL-17 total miktarı ile örnek alınan dişlere ait PI ($r=0,617$), GI ($r=0,696$) ve SK(%) ($r=0,577$) ile istatistiksel açıdan anlamlı olmakla beraber orta

düzey pozitif korelasyon; SCD ($r=0,715$), KAS($r=0,733$) ve DOS hacmi ($r=0,790$) ile ise yüksek düzey pozitif korelasyon görüldü.

Tükürük IL-17 konsantrasyon seviyeleri ile periodontal hastalık ilişkisi hakkında rapor edilmiş çalışmalara bakıldığında: Isaza-Guzman ve ark; yüksek, orta ve düşük yıkım şiddetine sahip periodontitis grupları ile sağlıklı kontrollerin Th17 sitokin (IL-22, IL-21, IL-17) düzeyleri bakımında karşılaştırıldığı bir çalışmada IL-17 konsantrasyon değerlerinde gruplar arasında fark ortaya koyulabilecek bir sonuç tespit edilememiştir. Bu durum Th1 yanıtının baskın olduğu örneklerde göze çarptığı için Th17 yanıtının baskılandığı düşünülmüştür (378).

Özçaka ve ark'nın hem tükürük hem plazma, Prakasam ve ark'nın ise tükürük IL-17 düzeylerini sağlıklı ve periodontitisli gruplar üzerinde incelediği her iki çalışmada da tükürük IL-17 konsantrasyonları sağlıklı grupta istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek rapor edilmiştir. Bu sonuçlarla ilgili olarak IL-17 düzeylerinin kemik yıkımına komşu alanlarda lokal bir olay olarak; daha çok hasta grupların DOS'unda yüksek tespit edildiği, hadisenin tükürük ve plazma sıvısına yansımadağı ayrıca periodontitisin aktif ve pasif dönemlerinin ayrımının klinik olarak yapılamadığı ve sağlıklı alanlarla karışan sitokin seviyelerinin gözlenebileceği yorumu yapılmıştır (379, 380).

Yang ve ark'nın 45 KP ve 47 S bireyde tükürük IL-17 seviyelerini incelediği çalışmada ise IL-17 düzeyleri KP grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur (381).

Batool ve ark'nın sağlıklı, düşük, orta ve şiddetli yıkım bulunan periodontitis gruplarında tükürük IL-17 seviyelerini araştırdığı çalışmada tüm gruplar arasında anlamlı fark gösterilmiş olup IL-17 konsantrasyonunun periodontitis şiddetiyle ilişkili olarak en şiddetli yıkım olan periodontitis grubunda olduğu bildirilmiştir (382).

İnönü ve ark'nın S, G, KP ve GAP gruplarında IL-17 tükürük konsantrasyon düzeylerini incelediği bir çalışmada da IL-17 konsantrasyonları; S ve G grubunda her iki periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edilmiş; G grubunda ise S grubundan anlamlı düzeyde yüksek izlenmiştir. Ancak KP ve GAP grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır (383).

Bu çalışmada da benzer şekilde S ve G grubunda tükürük IL-17 konsantrasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. En düşük tükürük IL-17 konsantrasyon seviyesi S grubunda ($9,37 \pm 2,85$) izlenirken en yüksek P3 grubunda ($46,83 \pm 26,34$) izlendi. G grubu ile P1, P2, P3 grupları karşılaştırıldığında G ve P1 arasında fark izlenmezken P2 ve P3 grubu ile G ve P1 grupları arasında istatistiksel olarak fark izlendi.

Tükürük IL-17 ile klinik parametreler arasındaki ilişkilerin değerlendirildiği çalışmalara bakıldığında; İnönü ve ark. tükürük IL-17 konsantrasyonları ve PI ile istatistiksel açıdan anlamlı olmakla birlikte düşük; GI, SCD, KAS ve SK(%) ile orta düzey pozitif korelasyon bildirmişlerdir. Ding ve ark. da PI, GI ve SCD ile yüksek düzey pozitif korelasyon rapor etmişlerdir (364, 383, 384).

Özçaka ve ark. ise tükürük IL-17 konsantrasyonu ile klinik parametreler arasında herhangi bir ilişki görülmediğini bildirmişlerdir (385).

Bu çalışmada ise tüm ağız klinik parametreler ile tükürük IL-17 konsantrasyonu arasında KAS, SCD ve SK ile yüksek pozitif korelasyon ($r=0,652-0,696$) izlenirken PI ve GI ile orta pozitif korelasyon izlenmiştir ($r=0,544-0,571$).

Serum IL-17 konsantrasyon seviyeleri ile periodontal hastalık ilişkisi hakkında rapor edilmiş çalışmalara bakıldığında: Özçaka ve ark.'nın tükürükle beraber plazma IL-17 seviyelerini de karşılaştırdığı aynı çalışmada sağlıklı ve KP grupları arasında plazma konsantrasyonları açısından fark tespit edilmemiştir (385).

Duarte ve ark.'nın sağlıklı, KP ve GAP gruplarında serum IL-17 düzeyleri üzerinde periodontal tedavinin etkinliğini araştıran bir çalışmada; GAP grubu ile KP ve sağlıklı gruplarının başlangıç IL-17 düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark olup en yüksek sitokin seviyeleri GAP grubunda bildirilmiştir. KP ve S grupları arasında ise fark rapor edilmemiştir (221).

Çiftçi başı ve ark.'nın 19 S ve 22 GAP'li bireyde DOS ve serum IL-17 seviyelerini karşılaştırdığı çalışmada hem DOS hem de serum sitokin düzeylerinin GAP grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu rapor edilmiştir (376).

Benzer şekilde Schenkein ve ark'nın; 67 S, 53 LAP ve 49 GAP'li bireyin serum IL-17 konsantrasyonlarını karşılaştırdığı bir çalışmada; IL-17 düzeyleri en yüksek GAP grubunda en düşük ise S grubunda izlenmiş ve gruplar arası anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir (386).

Su ve ark'nın sağlıklı ve genç ve yaşlı olmak üzere ikiye ayrılan KP grupları arasında serum IL-17 düzeylerini incelediği bir çalışmada da genç KP grubunda serum IL-17 konsantrasyonlarının yaşlı KP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. En düşük ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sağlıklı grupta bildirilmiştir (387).

Aynı şekilde Zhao ve ark'nın. 38 KP 30 sağlıklı bireyde ELİSA ve çeşitli analiz yöntemleriyle IL-17 serum düzeylerini araştırdığı çalışmada KP grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek serum IL-17 konsantrasyonları bildirilmiştir (377).

Bu çalışmada da S ve P gruplarında arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark olup en düşük serum IL-17 düzeyi S grubunda en yüksek periodontitis grubunda izlendi. S ve G grupları ile G ve P grupları kıyaslandığında da benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Fakat P1, P3 ve P3 grubunda fark izlenmedi.

Literatüre bakıldığında DOS, tükürük ve serum IL-17 düzeylerinin aynı çalışmada değerlendirildiği görülen bilginiz dahilinde 1 çalışmaya rastlanmıştır. Awang ve ark. 77 sağlıklı, 97 periodontitisli bireyin dahil edildiği çalışmada; DOS (pg/30sn), serum ve tükürük(pg/ml) IL-17 düzeyleri P grubunda S grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuş; ayrıca DOS, serum ve tükürük IL-17 düzeyleri SCD, KAS ve SK(%) ile sırasıyla yüksek-orta-orta, orta-orta-orta ve düşük-düşük-düşük pozitif korelasyon göstermiştir (388).

Serum IL-17 konsantrasyonları ile klinik periodontal parametreler arasındaki ilişkiyi inceleyen iki çalışmaya bakıldığında; Nile ve ark; biyokimyasal verilerle klinik bulgular arasında herhangi bir korelasyona rastlanılmadığını bildirmişlerdir (389).

Martins ve ark. ise klinik parametreleri grup içi değerlendirmek kaydıyla LAP grubunda SCD ve KAS ile orta düzey negatif korelasyon bildirmişlerdir (390).

Bu çalışmada ise tüm ağız klinik periodontal parametreler ile serum IL-17 arasında istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere orta düzey pozitif korelasyon tespit edildi ($r=0,47-0,589$).

IL-36γ Düzeylerinin ve Klinik Parametrelerle Korelasyonlarının Tartışılması

IL-36γ, Th17 kemokin ekspresyonunu içeren monosit ve makrofajlardan köken alan dendritik hücreler aracılığıyla enflamatuvar yanıtları uyarır ve *P. gingivalis*'in LPS'si ile ekspresyonunda önemli ölçüde artış gözlenir (16). Literatürde periodontitis ve IL-36γ ilişkisini inceleyen sınırlı sayıda çalışma göze çarpmaktadır.

Baboloo ve ark. 50 periodontitis, 50 sağlıklı bireyden alınan diş eti örneklerinin PCR yöntemiyle incelendiği bir çalışmada IL-36γ'nın MAPK ve TLR4 ile korelasyon göstererek periodontitis grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha fazla eksprese olduğunu bildirmiştir (391).

Cloitre ve ark.'nın 20 periodontitis, 16 sağlıklı bireyden alınan diş eti örneklerinin PCR yöntemiyle incelediği bir çalışmada da IL-36γ mRNA ekspresyonunun periodontitis grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. IL-36γ mRNA ekspresyonunun ayrıca periodontitis grubunda IL-1β, IL-6, TNF-α ve IL-17 enflamatuvar sitokinleri ile pozitif ilişkili olduğu ve TLR2, RANKL, OPG ve RANKL/OPG oranı ile de korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (392).

Huynh ve ark. oral epitel hücre kültürleri üzerinde yaptığı in-vitro bir çalışmada da *P. gingivalis* yanıt olarak IL-36γ ekspresyonunun gerçekleştirildiği bildirilmiştir. Ayrıca IL-36γ'nın IL-8 ve CXCL1'in yanı sıra Th17 kemokini CCL20'nin ekspresyonunu da uyardığı gösterilmiştir (16).

Heath ve ark. IL-36γ'nın oral mukazadaki rolünün, gingival keratinositler üzerinde değerlendirildiği in-vitro bir çalışmada; IL-36γ'nın oral epitel hücrelerinden güçlü bir şekilde MMP-9 ekspresyonunu uyardığı rapor edilmiştir (393). Bu çalışmada literatür doğrultusunda DOS IL-36γ düzeylerinin periodontal hastalıktaki rolünün sağlıklı kontroller ile kıyaslanması amaçlandı. Ancak DOS IL-36γ konsantrasyon ve total miktarlarının incelendiği bilginiz dahilinde 1 çalışma bulunmaktadır:

Kurşunlu ve ark.'nın 20 sağlıklı, 20 gingivitis 20 KP ve 20 GAP'li bireyde DOS IL-36γ total miktarlarını incelediği çalışmada gruplar arası anlamlı fark tespit edilememişken, DOS konsantrasyon seviyeleri S grubunda tüm gruplardan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. IL-36γ konsantrasyonları için G grubu ile KP ve GAP grupları arasında da istatistiksel açıdan anlamlı fark söz konusu olup en düşük G

grubunda görülmüştür. Periodontitis grupları arasında herhangi bir fark izlenmemiştir (394).

Bu çalışmada ise IL-36 γ DOS total miktar düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde en düşük S grubunda en yüksek ise ataçman kaybıyla orantılı olarak P3 grubunda görüldü. G gubu ile P1 grubu arasında fark görülmezken P3 ile hem P1 hem de G arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,001$). P2 ve P3 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

IL-36 γ konsantrasyon seviyeleri ise Kurşunlu ve ark.'nın çalışmasına benzer olarak istatistiksel olarak en yüksek sağlıklı grupta ($67,83\pm 80,83$) görüldü. Ancak G grubunda ($29,15\pm 15,84$) Kurşunlu ve ark.'ndan farklı olarak periodontitis grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek konsantrasyonlar görüldü ve en düşük değerler ataçman kaybıyla orantılı şekilde P3 grubunda ($12,79\pm 6,37$) ölçüldü. Bu durumun sebebi olarak bu çalışmada G grubunun DOS hacim ortalamasının beklendiği gibi periodontitis gruplarından düşük, sağlıklı gruptan yüksek olması düşünülebilir.

Literatürde tükürükte IL-36 γ 'nın araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma tükürükte IL-36 γ 'nın varlığını ve periodontal hastalıkla ilgili rolünü araştıran ilk çalışmadır. Tükürük IL-36 γ konsantrasyon seviyelerine bakıldığında DOS total miktar ortalama değerlerine benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sağlıklı düşük, periodontitis gruplarında artan sitokin seviyeleri tespit edildi. S ve G gruplarında ise anlamlı fark yoktu. DOS IL-36 γ total miktar seviyeleri ile tükürük IL-36 γ arasında da orta düzey pozitif korelasyon vardı ($r=0,555$; $p<0,001$).

Bilgimiz dahilinde literatürde serumda IL-36 γ 'nın periodontal hastalık ile ilişkisini inceleyen bir çalışma yoktur. Serum IL-36 γ 'nın tıp alanında incelendiği diğer çalışmalara bakıldığında: Tip 2 Diabetes Mellitus (DM) hastalarının serum örneklerinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığı bir çalışmada IL-36 γ sitokin düzeylerinde artış rapor edilmiştir.

Benzer şekilde Hayran ve ark.'nın kronik enflamatuvar doğaya sahip hidradenitis süpürativa tanılı 44 hasta ve 44 sağlıklı kontrolde ELİSA ile serum IL-36 γ konsantrasyon düzeylerini değerlendirdiği çalışmada; hasta grupta anlamlı düzeyde yüksek IL-36 γ değerleri belirtmişlerdir (395).

Mai ve ark'nın sistemik lupus eritematozus tanılı 72 hasta ve 63 sağlıklı kontrolün serum IL-36 γ düzeylerini ELİSA ile incelediği bir çalışmada da; IL-36 γ serum konsantrasyonları hasta grupta anlamlı düzeyde daha yüksek seviyelerde rapor edilmiştir (396).

Bu çalışmada da benzer şekilde IL-36 γ serum düzeylerinin DOS ve tükürük ortalama değerleri ile paralel olarak sağlıklıdan periodontitise doğru arttığı tespit edildi. S ve G grupları arasında istatistiksel açıdan fark olmayıp periodontitis gruplarında her iki gruba nazaran istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek tespit edildi ($p<0,001$). IL-36 γ 'nın tükürük ve serumda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek tespit edilebilmesi, alveoler kemik yıkımı varlığında IL-36 γ konsantrasyonlarının sistemik olarak da takip edilebilecek değerlere ulaşabildiği yorumunu doğurabilir.

IL-38 Düzeylerinin ve Klinik Parametrelerle Korelasyonlarının Tartışılması

Bu çalışma periodontitisli bireylerde IL-38'in rolü ve hastalık şiddeti ile ilişkisinin; DOS, tükürük ve serum analizi yoluyla araştırıldığı ayrıca periodontal klinik parametrelerle ilişkisinin yorumlandığı ilk çalışma özelliği taşımaktadır.

Literatürde IL-38'in daha önce oral dokularda araştırıldığı, periodontal hastalıkla ilişkisinin DOS'ta, tükürükte ve serumda incelendiği herhangi bir çalışma rapor edilmemiştir. Fakat IL-38 hakkında tıp alanında yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde; IL-38'in proenflamatuvar sitokin aktivitelerini bloke ederek antienflamatuvar özellik gösterdiği raporlanmıştır.

Takenaka ve ark.'nın IL-38 gen eksikliği olan ve olmayan artritli farelerde IL-38'in rolünü araştırdığı bir çalışmada; gen eksikliği bulunan farelerde IL-1 β ve IL-6'nın aşırı ekspresyonuna bağlı olarak daha şiddetli hastalık aktivitesi bildirilmiştir (20).

Boutet ve ark'nın. 2 farklı yöntemlerle artrit geliştirilmiş deney hayvanları üzerinde yaptığı çalışmada ise; farelere IL-38 gen enjeksiyonu yapıldıktan sonra klinik enflamatuvar skorlarda önemli düzeyde azalma gözlenmiştir. Bu azalma, aşırı IL-38 varlığında makrofaj infiltrasyonunun baskılanması, Th17 sitokinleri (IL-17,22,23) ve TNF α 'nın azalan ekspresyonu ile açıklanmıştır (397).

Boutet ve ark. yine 2 farklı yöntemle artrit geliştirilen deney hayvanları ve RA'lı hastaların snoviyumunda gerçekleştirdiği in-vitro bir çalışmada; IL-36- α,β,γ , IL-36Ra ve IL-38 mRNA seviyelerinin tümünün arttığı rapor edilmiştir (174).

Ge ve ark.'nın farelerin Treg hücrelerini izole ederek yaptığı in-vitro bir çalışmada ise CD4⁺/CD25⁺Treg hücrelerin LPS ile uyarılması sonucu IL-38 ekspresyonunda artış gözlenmiştir. CD4⁺/CD25⁺Treg'lerin IL-38 varlığında IL-10 ve TGF- β gibi antienflamatuvar sitokinleri ürettiği rapor edilmiştir (398). Bu doğrultuda IL-38'in periodontal enfeksiyonun aktif fazı sırasında proenflamatuvar sitokin yanıtını baskılayıcı rol oynayacağı düşünüldüğünden, biyolojik sıvılardaki IL-38 düzeylerinin periodontal sağlık durumunda daha yüksek konsantrasyonlarda olacağı beklenmektedir. Fakat IL-38'in etki mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamadığından insan serum sıvısında incelendiği çalışmalar irdelenmiştir:

Yang ve ark. 424 hiperlipidemili 408 sağlıklı bireyde ELİSA yöntemi ile IL-38 protein düzeylerinin incelendiği bir çalışmada; hasta bireylerde anlamlı düzeyde yüksek serum konsantrasyon seviyeleri rapor etmişlerdir (399).

Gurau ve ark; Tip2 DM hastaların serum sıvılarında yaptıkları çalışmada IL-38 düzeylerinin hasta bireylerde sağlıklı kontrollere nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (400).

IL-38 serum seviyeleri ile romatoid artrit gibi enflamatuvar hastalıklar arasında da dikkate değer bir ilişki rapor edilmiştir (401, 402). Xu ve ark; romatoid artritli ve sağlıklı bireylerin serum sıvılarında ELİSA yöntemi ile IL-38 düzeylerinin incelendiği bir çalışmada RA grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek IL-38 konsantrasyon seviyeleri bildirmişlerdir. Ayrıca remisyonda veya düşük hastalık aktivitesine sahip bireylerde yüksek hastalık aktivitesi izlenen gruba göre daha düşük IL-38 konsantrasyonları izlenmiştir (401). Bu doğrultuda kronik enflamatuvar hastalıklarda görülen bir kompenzasyon mekanizması dahilinde proenflamatuvar sitokinlerin artan ekspresyonuna bağlı olarak IL-38 gibi antienflamatuvar sitokinlerin artmaya başladığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada da serum IL-38 seviyeleri S(2,91 $\pm$ 1,3) ve G(4,41 $\pm$ 2,36) grubunda P(15,26 $\pm$ 9,8) gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük izlendi

($p<0,001$). Ancak P1, P2 ve P3 grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

IL-38 DOS, tükürük ve serum düzeyleri ile periodontal klinik parametreler arasındaki korelasyonlar incelendiğinde DOS IL-38 ile örnek alınan dişlere ait klinik parametreler ve DOS hacmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere orta düzey pozitif korelasyon tespit edildi. Tükürük IL-38 ve tüm ağız klinik arasında benzer şekilde orta düzey pozitif korelasyon vardı. Serum IL-38 ile GI ve SK arasında da orta düzey pozitif korelasyon izlenirken, serum IL-38 ile PI, ($r=0,606$), SCD ($0,702$) ve KAS ($r=0,694$) arasında yüksek pozitif korelasyon izlendi. Antienflamatuvar bir sitokin olarak IL-38'in biyolojik sıvılarda ve klinik parametreler ile olan pozitif korelasyonu hakkında proenflamatuvar sitokinler ile etkileşim içinde artıyor olabileceği düşünülmektedir.

Biyokimyasal Parametrelerin Birbirleriyle Korelasyonlarının Tartışılması

Literatürde DOS tükürük ve serumda MMP-9, IL-36 γ , IL-17 ve IL-38 düzeylerinin birlikte incelendiği bir çalışma bilginiz dahilinde yoktur.

Ancak yapılan hücre kültürü çalışmaları ve klinik çalışmalarda bildirilen korelasyonlarla uyumlu olarak (16, 17, 174, 392); bu çalışmada da incelenen biyokimyasal parametrelerin kendi aralarındaki ilişkilere bakıldığında IL-36 γ DOS total miktarı ile DOS MMP-9 arasında orta ($r=0,569$), DOS IL-17 ile yüksek ($r=0,640$), DOS IL-38 ile orta ($r=0,518$) düzey pozitif korelasyon gösterdi. Yine IL-36 γ serum seviyeleri; serum MMP-9 ile düşük ($r=0,271$), serum IL-17 ile orta ($r=0,593$), serum IL-38 ile yüksek ($r=0,654$) düzey pozitif korelasyon gösterdi. Bu durum IL-36 γ 'nın periodontal hastalık ilişkili proenflamatuvar bir sitokin olarak biyolojik sıvılarda tespit edilebilecek düzeyde yansıdığına işaret etmektedir.

IL-17 ile IL-38 arasındaki ilişkilerin incelendiği in-vitro çalışmalarda IL-38 varlığında IL-17 ve Th17 ailesine üye diğer sitokinlerin ekspresyonunda azalma rapor edilmiştir. Bu çalışmada ise tüm biyolojik sıvılarda IL-17 ile IL-38 arasında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek ve çok yüksek pozitif korelasyon tespit edildi ($r=0,718-0,608-0,742$). Bu durumla ilgili olarak IL-38'in antienflamatuvar rolünün proenflamatuvar sitokinlere cevaben artarak gerçekleştirdiği ve bu yüzden biyolojik sıvılarda yükseldiği düşünülebilir.

IL-17 ve MMP-9'un periodontal hastalıklarda birlikte değerlendirildiği çalışmalara bakıldığında; Beklen ve ark'nın hücre kültürü çalışmasında IL-17'nin sınırlı düzeyde MMP-9'u uyardığını bildirmişlerdir (403).

Tan ve ark'nın fare modellerinde IL-17 ve MMP-9 ekspresyonlarının incelendiği bir çalışmada IL-17 varlığında MMP-9 konsantrasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği bildirilmiştir (404).

DOS ve tükürük sıvılarında MMP-9 seviyeleri ile IL-17 arasında istatistiksel açıdan anlamlı olmak üzere sırasıyla yüksek ($r=0,66$) ve orta düzey ($r=0,44$) pozitif korelasyon izlendi. Serum MMP-9 ile IL-17 arasında ise düşük pozitif korelasyon($r=0,22$) izlendi.

Bu çalışmada çalışma gruplarının belirlenmesi sırasında sağlıklı ve gingivitis grupları ile periodontitis grupları arasında yaş ve cinsiyet parametreleri bakımından standardizasyon sağlanamamıştır. Bu durum çalışmaya dahil edilme kriterleri için bir limitasyon olarak değerlendirilebilir çünkü periodontitis görülme sıklığının yaşla birlikte artacağı bilindiğinden (405-407). Elde edilen sonuçların periodontitis grubunda daha yüksek olmasına yaş faktörü etki etmiş olabilir.

Diğer bir limitasyon örneklem büyüklüğünün belirlenmesi için yapılan güç analizinin yalnızca 3 grup için hesaplanmış olmasıdır. Çünkü periodontitis grubu belirlenirken ilk olarak 1999 Armitage sınıflamasında yer alan kronik periodontitis tanısına göre hastalar seçilmiş daha sonra 2017 yılında tanımlanan yeni sınıflamaya göre evrelendirme ve derecelendirme yapılmıştır. Bu sebeple periodontitis alt grupları için örneklem büyüklükleri rastgele dağılmaktadır.

Diğer bir limitasyon; DOS örneklerinin tümünün aynı sulkustan sağlıklı bir şekilde alınamayacağı düşünüldüğünden iki farklı diştan alınması ve çoklu analiz sistemlerinin kullanılamaması sebebiyle (multiassay) 1 örnekten yalnızca 2 biyokimyasal parametrenin incelenmesidir. Bu durum, aynı bölgedeki lokal enflamatuvar yanıt hakkında incelenen biyokimyasal parametrelerin kesin bir ilişki içinde olduğunun ya da olmadığının tespit edilmesini engellemektedir (408). Buna karşılık yine de örnekler aynı hastadan aynı zaman diliminde alındığı için korelasyonları değerlendirilerek aralarında anlamlı düzeyde orta-yüksek pozitif korelasyon saptanmıştır.

Başka bir limitasyon, IL-38'in antienflamatuvar bir sitokin olarak başlatıcı sinyalizasyonunun ve etki mekanizmalarının henüz tam olarak aydınlatılamamış olması (18, 166) sebebiyle bu çalışmada periodontal hastalıkta artıyor olmasının net olarak açıklanamamasıdır. Önerimiz; IL-38'in periodontal hastalıklarla ilişkili antienflamatuvar bir protein ile de ilişkisinin değerlendirilmesi ve boylamsal (longitudunal) bir takip çalışması ile IL-38'in periodontal inflamasyon ve periodontal hastalık ilerleme derecesini yansıtıp yansıtmadığının incelenmesidir. Ayrıca periodontal tedavi sonucunda IL-38 hakkında gerçekleşecek olası değişiklikler de araştırılmalıdır.



6.Sonuçlar ve Öneriler

DOS MMP-9 total miktar, tükürük ve serum düzeyleri hastalıkla artan seyirler gösterirken, DOS MMP-9 konsantrasyonu azalan seyir gösterdi. Benzer durum diğer biyokimyasal parametreler için de geçerli idi. Sebep olarak DOS hacminin de hastalıkla artıyor olması düşünüldü.

DOS, tükürük ve serum IL-17 seviyeleri ile tüm ağız klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı. IL-17 örneklenen vücut sıvılarında periodontal sağlıktan hastalığa doğru artan seyre sahipti.

Benzer şekilde IL-36 γ da proenflamatuvar karakterini yansıtarak periodontal hastalıklarda hem DOS hem tükürük hem de serumda artarak seyretti. Ayrıca tüm ağız klinik parametreler ile arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon saptandı.

DOS, tükürük ve serum IL-38 seviyeleri ile tüm ağız klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon saptandı.

Tüm biyokimyasal parametrelerin DOS total miktar düzeyleri G ve P1 grubu için istatistiksel açıdan benzer bulundu fakat P2 ve P3 grubunda G grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek ölçüldü. Bu durum incelenen biyokimyasal parametrelerin periodontal ataçman kaybının şiddeti arttıkça daha fazla etkinlik gösterdiğini düşündürmektedir.

Serum MMP-9 konsantrasyonları açısından hiçbir grup arasında anlamlı fark görülmedi. Bu durum bağ doku yıkımının lokalize kaldığı ve doku yıkım enzimlerinin sistemik boyutta anlamlı fark gösterecek konsantrasyonlara ulaşmadığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak incelenen tüm biyokimyasal parametreler bütün numunelerde analiz edilebildi. Hem IL-36 γ hem de IL-38'in MMP-9 ve IL-17 gibi periodontal hastalıklardaki rolünün net olarak bilindiği biyobelirteçler ile arasında anlamlı ilişki tespit edilebildi. Sonuçlar periodontal klinik parametreler ve DOS hacmi ile de önemli korelasyonlara sahipti.

Çalışmanın tüm sonuçları değerlendirildiğinde; periodontal hastalıkların tam anlamıyla aydınlatılamamış karmaşık bir patogeneze sahip olması nedeniyle bireysel farklılıkların en aza indirgendiği, histolojik ve mikrobiyolojik değerlendirmeleri de içeren daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Kaynakça:

1. Kinane DF, Mark Bartold P. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontology* 2000. 2007;43(1):278-93.
2. Bartold PM, Van Dyke TE. Host modulation: controlling the inflammation to control the infection. *Periodontology* 2000. 2017;75(1):317-29.
3. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45 Suppl 20:S68-s77.
4. Lang NP, Schatzle MA, Loe H. Gingivitis as a risk factor in periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*. 2009;36 Suppl 10:3-8.
5. Kurgan S, Kantarci A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. *Periodontol* 2000. 2018;76(1):51-67.
6. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*. 2018;89 Suppl 1:S173-s82.
7. Preshaw PM. Host modulation therapy with anti-inflammatory agents. *Periodontol* 2000. 2018;76(1):131-49.
8. Trombelli L, Scapoli C, Tatakis DN, Minenna L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: response in aggressive periodontitis subjects. *Journal of clinical periodontology*. 2006;33(2):79-85.
9. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottega S, Orlandini E, Tosi M. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. *Journal of clinical periodontology*. 2004;31(4):239-52.
10. Smith PC, Munoz VC, Collados L, Oyarzun AD. In situ detection of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in gingival epithelium in human periodontal disease. *Journal of periodontal research*. 2004;39(2):87-92.
11. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000. 2014;64(1):57-80.
12. Carter LL, Dutton RW. Type 1 and type 2: a fundamental dichotomy for all T-cell subsets. *Current opinion in immunology*. 1996;8(3):336-42.
13. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *International journal of oral science*. 2019;11(3):30.
14. Zhang S, Yu N, Arce RM. Periodontal inflammation: Integrating genes and dysbiosis. *Periodontol* 2000. 2020;82(1):129-42.
15. Cheng WC, Hughes FJ, Taams LS. The presence, function and regulation of IL-17 and Th17 cells in periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2014;41(6):541-9.

16. Huynh J, Scholz GM, Aw J, Kwa MQ, Achuthan A, Hamilton JA, et al. IRF6 Regulates the Expression of IL-36gamma by Human Oral Epithelial Cells in Response to *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2016;196(5):2230-8.
17. Heath JE, Scholz GM, Veith PD, Reynolds EC. IL-36gamma regulates mediators of tissue homeostasis in epithelial cells. *Cytokine*. 2019;119:24-31.
18. Yuan X, Peng X, Li Y, Li M. Role of IL-38 and its related cytokines in inflammation. *Mediators of inflammation*. 2015;2015:807976.
19. Xie L, Huang Z, Li H, Liu X, Zheng S, Su W. IL-38: A New Player in Inflammatory Autoimmune Disorders. *Biomolecules*. 2019;9(8).
20. Takenaka SI, Kaieda S, Kawayama T, Matsuoka M, Kaku Y, Kinoshita T, et al. IL-38: A new factor in rheumatoid arthritis. *Biochemistry and biophysics reports*. 2015;4:386-91.
21. Wang M, Wang B, Ma Z, Sun X, Tang Y, Li X, et al. Detection of the novel IL-1 family cytokines by QAH-IL1F-1 assay in rheumatoid arthritis. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*. 2016;62(4):31-4.
22. de Lima CL, Acevedo AC, Grisi DC, Taba M, Jr., Guerra E, De Luca Canto G. Host-derived salivary biomarkers in diagnosing periodontal disease: systematic review and meta-analysis. *Journal of clinical periodontology*. 2016;43(6):492-502.
23. Buduneli N, Kinane DF. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2011;38 Suppl 11:85-105.
24. Organization. WH. Constitution of WHO <http://www.who.int/about/mission/en>.: Basic Documents; [45:]
25. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45(S20):S9-S16.
26. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*. 2018;89(S1):S74-S84.
27. Schei O, Waerhaug J, Lovdal A, Arno A. Alveolar Bone Loss as Related to Oral Hygiene and Age. *The Journal of Periodontology*. 1959;30(1):7-16.
28. Wikner S, Söder PO, Frithiof L, Wouters F. The approximal bone height and intrabony defects in young adults, related to the salivary buffering capacity and counts of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli*. *Archives of oral biology*. 1990;35 Suppl:213s-5s.
29. Hinrichs JE, Thumbigere-Math V. The Role of Dental Calculus and Other Local Predisposing Factors. In: CARRANZA FA, NEWMAN MG, TAKEI HH, KLOKKEVOLD PR, editors. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. 13 ed. Philadelphia: Elsevier; 2019. p. 190-207.
30. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nature reviews Disease primers*. 2017;3:17038.

31. Løe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis in Man. *The Journal of Periodontology*. 1965;36(3):177-87.
32. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple IL. Dental plaque-induced gingival conditions. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45:S17-S27.
33. Stamm JW. Epidemiology of gingivitis. *Journal of clinical periodontology*. 1986;13(5):360-66.
34. Dye BA. Global periodontal disease epidemiology. *Periodontol 2000*. 2012;58(1):10-25.
35. Burt B. Position paper: epidemiology of periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 2005;76(8):1406-19.
36. Tonetti MS, Chapple IL, Jepsen S, Sanz M. Primary and secondary prevention of periodontal and peri-implant diseases: Introduction to, and objectives of the 11th European Workshop on Periodontology consensus conference. *Journal of clinical periodontology*. 2015;42 Suppl 16:S1-4.
37. Zmora N, Bashirades S, Levy M, Elinav E. The Role of the Immune System in Metabolic Health and Disease. *Cell metabolism*. 2017;25(3):506-21.
38. Kinane DF. Periodontitis Modified by Systemic Factors. *Annals of periodontology*. 1999;4(1):54-63.
39. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*. 2015;69(1):7-17.
40. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2015;69(1):7-17.
41. Schatzle M, Loe H, Burgin W, Anerud A, Boysen H, Lang NP. Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis. *Journal of clinical periodontology*. 2003;30(10):887-901.
42. Ramseier CA, Anerud A, Dulac M, Lulic M, Cullinan MP, Seymour GJ, et al. Natural history of periodontitis: Disease progression and tooth loss over 40 years. *Journal of clinical periodontology*. 2017;44(12):1182-91.
43. Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusberti FA, Siegrist BE. Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? *Journal of clinical periodontology*. 1986;13(6):590-6.
44. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of periodontology*. 2018;89 Suppl 1:S46-s73.
45. Fiorellini JP, Sarmiento HL, Kim DM, Chang Y-C. Clinical Features of Gingivitis. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. 13 ed. Philadelphia: Elsevier; 2019. p. 248-58.
46. Slots J. Periodontology: past, present, perspectives. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):7-19.
47. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International journal of health sciences*. 2017;11(2):72-80.

48. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of periodontology*. 2018;89 Suppl 1:S159-s72.
49. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature reviews Microbiology*. 2010;8(7):481-90.
50. Chang AM, Kantrong N, Darveau RP. Maintaining homeostatic control of periodontal epithelial tissue. *Periodontol 2000*. 2021;86(1):188-200.
51. Darveau RP, Hajishengallis G, Curtis MA. *Porphyromonas gingivalis* as a potential community activist for disease. *Journal of dental research*. 2012;91(9):816-20.
52. Larsson L, Castilho RM, Giannobile WV. Epigenetics and its role in periodontal diseases: a state-of-the-art review. *Journal of periodontology*. 2015;86(4):556-68.
53. Reynolds MA. Modifiable risk factors in periodontitis: at the intersection of aging and disease. *Periodontol 2000*. 2014;64(1):7-19.
54. Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 1994;5:66-77.
55. Moore WE, Holdeman LV, Cato EP, Smibert RM, Burmeister JA, Ranney RR. Bacteriology of moderate (chronic) periodontitis in mature adult humans. *Infection and immunity*. 1983;42(2):510-5.
56. Curtis MA, Diaz PI, Van Dyke TE. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2020;83(1):14-25.
57. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*. 2002;28:12-55.
58. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*. 1998;25(2):134-44.
59. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. *Periodontol 2000*. 2011;55(1):36-47.
60. Hajishengallis G, Lamont RJ. Polymicrobial communities in periodontal disease: Their quasi-organismal nature and dialogue with the host. *Periodontol 2000*. 2021;86(1):210-30.
61. Hajishengallis G. The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Molecular oral microbiology*. 2014;29(6):248-57.
62. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontol 2000*. 2020;84(1):14-34.
63. Joseph S, Curtis MA. Microbial transitions from health to disease. *Periodontol 2000*. 2021;86(1):201-9.
64. Mahanonda R, Pichyangkul S. Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*. 2007;43:41-55.

65. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends in immunology*. 2014;35(1):3-11.
66. Moutsopoulos NM, Kling HM, Angelov N, Jin W, Palmer RJ, Nares S, et al. *Porphyromonas gingivalis* promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(4):294-303.
67. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol 2000*. 2000;24:28-55.
68. Hajishengallis G, Lambris JD. Microbial manipulation of receptor crosstalk in innate immunity. *Nature reviews Immunology*. 2011;11(3):187-200.
69. Daltaban O, Saygun I, Bal B, Baloş K, Serdar M. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase levels in postmenopausal women: effects of phase I periodontal treatment. *Journal of periodontology*. 2006;77(1):67-72.
70. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*. 2017;2:17023-.
71. Walsh LJ. Mast cells and oral inflammation. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*. 2003;14(3):188-98.
72. Huang S, Lu F, Chen Y, Huang B, Liu M. Mast cell degranulation in human periodontitis. *Journal of periodontology*. 2013;84(2):248-55.
73. Pietrzak E, Savage N, Walsh L. Human gingival keratinocytes express E-selectin (CD62E). *Oral diseases*. 1996;2(1):11-7.
74. Phillipson M, Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation. *Nature medicine*. 2011;17(11):1381-90.
75. Tonetti MS, Imboden MA, Lang NP. Neutrophil Migration Into the Gingival Sulcus Is Associated With Transepithelial Gradients of Interleukin-8 and ICAM-1. *Journal of periodontology*. 1998;69(10):1139-47.
76. 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.
77. Payne W, Page RC, Ogilvie A, Hall W. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *Journal of periodontal research*. 1975;10(2):51-64.
78. ABBAS AK, LİCHTMAN AH. Humoral İmmün Yanıt. In: Camcıoğlu Y, Deniz G, editors. *Temel İmmunoloji*. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık 2007. p. 123-43.
79. Jongsma MLM, Guarda G, Spaapen RM. The regulatory network behind MHC class I expression. *Molecular immunology*. 2019;113:16-21.
80. Seymour GJ, Gemmell E, Walsh LJ, Powell RN. Immunohistological analysis of experimental gingivitis in humans. *Clinical and experimental immunology*. 1988;71(1):132-7.
81. Seymour GJ, Powell RN, Aitken JF. Experimental gingivitis in humans. A clinical and histologic investigation. *Journal of periodontology*. 1983;54(9):522-8.

82. Bick PH, Carpenter AB, Holdeman LV, Miller GA, Ranney RR, Palcanis KG, et al. Polyclonal B-cell activation induced by extracts of Gram-negative bacteria isolated from periodontally diseased sites. *Infection and immunity*. 1981;34(1):43-9.
83. Carpenter AB, Sully EC, Ranney RR, Bick PH. T-cell regulation of polyclonal B-cell activation induced by extracts of oral bacteria associated with periodontal diseases. *Infection and immunity*. 1984;43(1):326-36.
84. Mangan DF, Won T, Lopatin DE. Nonspecific induction of immunoglobulin M antibodies to periodontal disease-associated microorganisms after polyclonal human B-lymphocyte activation by *Fusobacterium nucleatum*. *Infection and immunity*. 1983;41(3):1038-45.
85. Baranowska HI, Palmer RM, Wilson RF. A comparison of antibody levels to *Bacteroides gingivalis* in serum and crevicular fluid from patients with untreated periodontitis. *Oral microbiology and immunology*. 1989;4(3):173-5.
86. Ebersole JL, Cappelli D, Sandoval MN, Steffen MJ. Antigen specificity of serum antibody in *A. actinomycetemcomitans*-infected periodontitis patients. *Journal of dental research*. 1995;74(2):658-66.
87. Seymour GJ, Berglundh T, Trombelli L. Periodontitisin Patogenezi. In: Lang NP, Lindhe J, editors. *Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları* 1. 6 ed: John Wiley & Sons; 2015 p. 257-9.
88. Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontology* 2000. 2010;53(1):55-69.
89. Ryan ME, Golub LM. Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy. *Periodontol* 2000. 2000;24:226-38.
90. Franco C, Patricia HR, Timo S, Claudia B, Marcela H. Matrix Metalloproteinases as Regulators of Periodontal Inflammation. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(2).
91. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000. 2003;31:77-104.
92. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, et al. Identification of Pathogen and Host-Response Markers Correlated With Periodontal Disease. *Journal of periodontology*. 2009;80(3):436-46.
93. Heikkinen AM, Sorsa T, Pitkaniemi J, Tervahartiala T, Kari K, Broms U, et al. Smoking affects diagnostic salivary periodontal disease biomarker levels in adolescents. *Journal of periodontology*. 2010;81(9):1299-307.
94. Korostoff JM, Wang JF, Sarment DP, Stewart JCB, Feldman RS, Billings PC. Analysis of In Situ Protease Activity in Chronic Adult Periodontitis Patients: Expression of Activated MMP-2 and a 40 kDa Serine Protease. *Journal of periodontology*. 2000;71(3):353-60.
95. Smith PC, Muñoz VC, Collados L, Oyarzún AD. In situ detection of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in gingival epithelium in human periodontal disease. *Journal of periodontal research*. 2004;39(2):87-92.
96. Séguier S, Gogly B, Bodineau A, Godeau G, Brousse N. Is collagen breakdown during periodontitis linked to inflammatory cells and expression of matrix

metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human gingival tissue? *Journal of periodontology*. 2001;72(10):1398-406.

97. Zhang Z, Yang X, Zhang H, Liu X, Pan S, Li C. The role of extracellular matrix metalloproteinase inducer glycosylation in regulating matrix metalloproteinases in periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2018;53(3):391-402.

98. Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Rudd PM, Dwek RA, Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. 2002;37(6):375-536.

99. Pozo P, Valenzuela MA, Melej C, Zaldívar M, Puente J, Martínez B, et al. Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *Journal of periodontal research*. 2005;40(3):199-207.

100. Chen D, Wang Q, Ma ZW, Chen FM, Chen Y, Xie GY, et al. MMP-2, MMP-9 and TIMP-2 gene polymorphisms in Chinese patients with generalized aggressive periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2007;34(5):384-9.

101. De Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, De Brito Jr RB, Barros SP, Line SRP. Analysis of the MMP-9 (C-1562 T) and TIMP-2 (G-418C) gene promoter polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32(2):207-11.

102. Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, de Sousa TS, Taba M, Jr., Teofilo JM, et al. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *Journal of clinical periodontology*. 2010;37(2):180-90.

103. Yang S, Gu B, Zhao L, Shi Q, Xu J, Wen N. Meta-analysis of the association between serum and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-9 and periodontitis. *Journal of the American Dental Association (1939)*. 2019;150(1):34-41.

104. Kim HD, Lee CS, Cho HJ, Jeon S, Choi YN, Kim S, et al. Diagnostic ability of salivary matrix metalloproteinase-9 lateral flow test point-of-care test for periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2020;47(11):1354-61.

105. Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *Journal of clinical periodontology*. 2011;38 Suppl 11:60-84.

106. Hughes FJ. Cytokines and cell signalling in the periodontium. *Oral diseases*. 1995;1(4):259-65.

107. Vilcek J. The Cytokines; an overview. In: Angus W Thompson MTL, editor. *The Cytokine Handbook*. 1. 4 ed. London: Academic Press; 2003.

108. Kinane DF, Preshaw PM, Loos BG. Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *Journal of clinical periodontology*. 2011;38 Suppl 11:44-8.

109. Jaedicke KM, Preshaw PM, Taylor JJ. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontology 2000*. 2016;70(1):164-83.

110. Romagnani S. Human TH1 and TH2 subsets: doubt no more. *Immunology today*. 1991;12(8):256-7.
111. Bhaumik S, Basu R. Cellular and Molecular Dynamics of Th17 Differentiation and its Developmental Plasticity in the Intestinal Immune Response. *Frontiers in immunology*. 2017;8:254.
112. Khader SA, Gaffen SL, Kolls JK. Th17 cells at the crossroads of innate and adaptive immunity against infectious diseases at the mucosa. *Mucosal immunology*. 2009;2(5):403-11.
113. Yago T, Nanke Y, Ichikawa N, Kobashigawa T, Mogi M, Kamatani N, et al. IL-17 induces osteoclastogenesis from human monocytes alone in the absence of osteoblasts, which is potently inhibited by anti-TNF-alpha antibody: a novel mechanism of osteoclastogenesis by IL-17. *Journal of cellular biochemistry*. 2009;108(4):947-55.
114. Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine & growth factor reviews*. 2002;13(4-5):413-21.
115. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*. 1998;9(3):248-66.
116. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology*. 2003;74(3):391-401.
117. Howells GL. Cytokine networks in destructive periodontal disease. *Oral diseases*. 1995;1(4):266-70.
118. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 1993;64(5 Suppl):474-84.
119. Wolf J, Rose-John S, Garbers C. Interleukin-6 and its receptors: a highly regulated and dynamic system. *Cytokine*. 2014;70(1):11-20.
120. Jones GW, McLoughlin RM, Hammond VJ, Parker CR, Williams JD, Malhotra R, et al. Loss of CD4+ T cell IL-6R expression during inflammation underlines a role for IL-6 trans signaling in the local maintenance of Th17 cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2010;184(4):2130-9.
121. Wu Q, Zhou X, Huang D, Ji Y, Kang F. IL-6 Enhances Osteocyte-Mediated Osteoclastogenesis by Promoting JAK2 and RANKL Activity In Vitro. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2017;41(4):1360-9.
122. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol 2000*. 2008;48:92-110.
123. Aggarwal S, Gurney AL. IL-17: prototype member of an emerging cytokine family. *Journal of leukocyte biology*. 2002;71(1):1-8.
124. Gu C, Wu L, Li X. IL-17 family: cytokines, receptors and signaling. *Cytokine*. 2013;64(2):477-85.
125. Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S. Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity*. 2011;34(2):149-62.

126. Cardoso CR, Garlet GP, Crippa GE, Rosa AL, Júnior WM, Rossi MA, et al. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease. *Oral microbiology and immunology*. 2009;24(1):1-6.
127. DEMBIC Z. Cytokines of the Immune System: Interleukins. *The Cytokines of the Immune System THE ROLE OF CYTOKINES IN DISEASE RELATED TO IMMUNE RESPONSE* United State: Mica Halley. p. 220-3.
128. Cua DJ, Tato CM. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nature reviews Immunology*. 2010;10(7):479-89.
129. Sutton CE, Mielke LA, Mills KH. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells and innate lymphoid cells. *European journal of immunology*. 2012;42(9):2221-31.
130. Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity*. 2004;21(4):467-76.
131. Okada H, Murakami S, Kitamura M, Nozaki T, Kusumoto Y, Hirano H, et al. Diagnostic strategies of periodontitis based on the molecular mechanisms of periodontal tissue destruction. *Oral diseases*. 1996;2(1):87-95.
132. Hernández-Santos N, Gaffen SL. Th17 cells in immunity to *Candida albicans*. *Cell host & microbe*. 2012;11(5):425-35.
133. Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, Murphy KM. Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. *Immunity*. 2006;24(6):677-88.
134. Hajishengallis E, Hajishengallis G. Neutrophil homeostasis and periodontal health in children and adults. *Journal of dental research*. 2014;93(3):231-7.
135. Stark MA, Huo Y, Burcin TL, Morris MA, Olson TS, Ley K. Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17. *Immunity*. 2005;22(3):285-94.
136. Zenobia C, Hajishengallis G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. *Periodontol 2000*. 2015;69(1):142-59.
137. Diamond G, Beckloff N, Ryan LK. Host defense peptides in the oral cavity and the lung: similarities and differences. *Journal of dental research*. 2008;87(10):915-27.
138. Gorr SU. Antimicrobial peptides of the oral cavity. *Periodontol 2000*. 2009;51:152-80.
139. Liang SC, Tan XY, Luxenberg DP, Karim R, Dunussi-Joannopoulos K, Collins M, et al. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *The Journal of experimental medicine*. 2006;203(10):2271-9.
140. Okita Y, Shiono T, Yahagi A, Hamada S, Umemura M, Matsuzaki G. Interleukin-22-Induced Antimicrobial Phospholipase A2 Group IIA Mediates Protective Innate Immunity of Nonhematopoietic Cells against *Listeria monocytogenes*. *Infection and immunity*. 2016;84(2):573-9.
141. Gaffen SL, Hajishengallis G. A new inflammatory cytokine on the block: re-thinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *Journal of dental research*. 2008;87(9):817-28.
142. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontol 2000*. 2007;43:14-40.

143. Moran EM, Mullan R, McCormick J, Connolly M, Sullivan O, Fitzgerald O, et al. Human rheumatoid arthritis tissue production of IL-17A drives matrix and cartilage degradation: synergy with tumour necrosis factor- α , Oncostatin M and response to biologic therapies. *Arthritis research & therapy*. 2009;11(4):R113.
144. Van bezooijen RL, Farih-Sips HC, Papapoulos SE, Löwik CW. Interleukin-17: A new bone acting cytokine in vitro. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1999;14(9):1513-21.
145. Doreau A, Belot A, Bastid J, Riche B, Trescol-Biemont MC, Ranchin B, et al. Interleukin 17 acts in synergy with B cell-activating factor to influence B cell biology and the pathophysiology of systemic lupus erythematosus. *Nature immunology*. 2009;10(7):778-85.
146. Griffin GK, Newton G, Tarrio ML, Bu DX, Maganto-Garcia E, Azcutia V, et al. IL-17 and TNF- α sustain neutrophil recruitment during inflammation through synergistic effects on endothelial activation. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2012;188(12):6287-99.
147. Onishi RM, Gaffen SL. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*. 2010;129(3):311-21.
148. Paintlia MK, Paintlia AS, Singh AK, Singh I. Synergistic activity of interleukin-17 and tumor necrosis factor- α enhances oxidative stress-mediated oligodendrocyte apoptosis. *Journal of neurochemistry*. 2011;116(4):508-21.
149. Ruddy MJ, Wong GC, Liu XK, Yamamoto H, Kasayama S, Kirkwood KL, et al. Functional cooperation between interleukin-17 and tumor necrosis factor- α is mediated by CCAAT/enhancer-binding protein family members. *The Journal of biological chemistry*. 2004;279(4):2559-67.
150. Shaker OG, Ghallab NA. IL-17 and IL-11 GCF levels in aggressive and chronic periodontitis patients: relation to PCR bacterial detection. *Mediators of inflammation*. 2012;2012:174764.
151. Kotake S, Yago T, Kawamoto M, Nanke Y. Role of osteoclasts and interleukin-17 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: crucial 'human osteoclastology'. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2012;30(2):125-35.
152. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003;423(6937):337-42.
153. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *Journal of clinical periodontology*. 2012;39(3):239-48.
154. Miossec P, Kolls JK. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation. *Nature reviews Drug discovery*. 2012;11(10):763-76.
155. de Pablo P, Chapple IL, Buckley CD, Dietrich T. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. *Nature reviews Rheumatology*. 2009;5(4):218-24.
156. Kwak A, Lee Y, Kim H, Kim S. Intracellular interleukin (IL)-1 family cytokine processing enzyme. *Archives of pharmacal research*. 2016;39(11):1556-64.
157. Gabay C, Towne JE. Regulation and function of interleukin-36 cytokines in homeostasis and pathological conditions. *Journal of leukocyte biology*. 2015;97(4):645-52.

158. Mutamba S, Allison A, Mahida Y, Barrow P, Foster N. Expression of IL-1Rrp2 by human myelomonocytic cells is unique to DCs and facilitates DC maturation by IL-1F8 and IL-1F9. *European journal of immunology*. 2012;42(3):607-17.
159. Vigne S, Palmer G, Lamacchia C, Martin P, Talabot-Ayer D, Rodriguez E, et al. IL-36R ligands are potent regulators of dendritic and T cells. *Blood*. 2011;118(22):5813-23.
160. Bridgewood C, Stacey M, Alase A, Lagos D, Graham A, Wittmann M. IL-36 γ has proinflammatory effects on human endothelial cells. *Experimental dermatology*. 2017;26(5):402-8.
161. Carrier Y, Ma HL, Ramon HE, Napierata L, Small C, O'Toole M, et al. Inter-regulation of Th17 cytokines and the IL-36 cytokines in vitro and in vivo: implications in psoriasis pathogenesis. *The Journal of investigative dermatology*. 2011;131(12):2428-37.
162. Johnston A, Xing X, Guzman AM, Riblett M, Loyd CM, Ward NL, et al. IL-1F5, -F6, -F8, and -F9: a novel IL-1 family signaling system that is active in psoriasis and promotes keratinocyte antimicrobial peptide expression. *Journal of immunology* (Baltimore, Md : 1950). 2011;186(4):2613-22.
163. Bochkov YA, Hanson KM, Keles S, Brockman-Schneider RA, Jarjour NN, Gern JE. Rhinovirus-induced modulation of gene expression in bronchial epithelial cells from subjects with asthma. *Mucosal immunology*. 2010;3(1):69-80.
164. Vos JB, van Sterkenburg MA, Rabe KF, Schalkwijk J, Hiemstra PS, Datson NA. Transcriptional response of bronchial epithelial cells to *Pseudomonas aeruginosa*: identification of early mediators of host defense. *Physiological genomics*. 2005;21(3):324-36.
165. Ge Y, Huang M, Wu Y, Dong N, Yao Y-M. Interleukin-38 protects against sepsis by augmenting immunosuppressive activity of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2020;24(2):2027-39.
166. van de Veerdonk FL, Stoeckman AK, Wu G, Boeckermann AN, Azam T, Netea MG, et al. IL-38 binds to the IL-36 receptor and has biological effects on immune cells similar to IL-36 receptor antagonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(8):3001-5.
167. Bensen JT, Dawson PA, Mychaleckyj JC, Bowden DW. Identification of a novel human cytokine gene in the interleukin gene cluster on chromosome 2q12-14. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 2001;21(11):899-904.
168. Nicklin MJ, Barton JL, Nguyen M, FitzGerald MG, Duff GW, Kornman K. A sequence-based map of the nine genes of the human interleukin-1 cluster. *Genomics*. 2002;79(5):718-25.
169. Lin H, Ho AS, Haley-Vicente D, Zhang J, Bernal-Fussell J, Pace AM, et al. Cloning and Characterization of IL-1HY2, a Novel Interleukin-1 Family Member*. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(23):20597-602.
170. Xu WD, Huang AF. Role of Interleukin-38 in Chronic Inflammatory Diseases: A Comprehensive Review. *Frontiers in immunology*. 2018;9:1462.

171. Lin H, Ho AS, Haley-Vicente D, Zhang J, Bernal-Fussell J, Pace AM, et al. Cloning and characterization of IL-1HY2, a novel interleukin-1 family member. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(23):20597-602.
172. van de Veerdonk FL, Netea MG. New Insights in the Immunobiology of IL-1 Family Members. *Frontiers in immunology*. 2013;4:167.
173. Mora J, Schlemmer A, Wittig I, Richter F, Putyrski M, Frank AC, et al. Interleukin-38 is released from apoptotic cells to limit inflammatory macrophage responses. *Journal of molecular cell biology*. 2016;8(5):426-38.
174. Boutet MA, Bart G, Penhoat M, Amiaud J, Brulin B, Charrier C, et al. Distinct expression of interleukin (IL)-36 α , β and γ , their antagonist IL-36Ra and IL-38 in psoriasis, rheumatoid arthritis and Crohn's disease. *Clinical and experimental immunology*. 2016;184(2):159-73.
175. 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.
176. Uitto VJ. Gingival crevice fluid--an introduction. *Periodontol 2000*. 2003;31:9-11.
177. Brill N, Krasse BO. The Passage of Tissue Fluid into the Clinically Healthy Gingival Pocket. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1958;16(3):233-45.
178. Alfano MC. The origin of gingival fluid. *Journal of theoretical biology*. 1974;47(1):127-36.
179. Rahnama M, Czupkałło Ł, Kozicka-Czupkałło M, Łobacz M. Gingival Crevicular Fluid – Composition and Clinical Importance in Gingivitis and Periodontitis. 2014;124(2):96.
180. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol 2000*. 2003;31:43-54.
181. EMİNGİL G. Diş Etinin Savunma Mekanizmaları. In: ÇAĞLAYAN G, editor. *Periodontoloji ve İmplantoloji*. 1 ed. İstanbul: Quintessence Publishing; 2018. p. 143-92.
182. Oliver RC, Holm-Pederen P, Løe H. The correlation between clinical scoring, exudate measurements and microscopic evaluation of inflammation in the gingiva. *Journal of periodontology*. 1969;40(4):201-9.
183. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2004;34:109-19.
184. Egelberg J. Permeability of the dento-gingival blood vessels. IV. Effect of histamine on vessels in clinically healthy and chronically inflamed gingivae. *Journal of periodontal research*. 1966;1(4):297-302.
185. Egelberg J. Permeability of the dento-gingival blood vessels. 1. Application of the vascular labelling method and gingival fluid measurements. *Journal of periodontal research*. 1966;1(3):180-91.
186. Egelberg J. Permeability of the dento-gingival blood vessels. 3. Chronically inflamed gingivae. *Journal of periodontal research*. 1966;1(4):287-96.
187. Shapiro L, Goldman H, Bloom A. Sulcular exudate flow in gingival inflammation. *Journal of periodontology*. 1979;50(6):301-4.

188. Del Fabbro M, Francetti L, Bulfamante G, Cribiù M, Miserocchi G, Weinstein RL. Fluid dynamics of gingival tissues in transition from physiological condition to inflammation. *Journal of periodontology*. 2001;72(1):65-73.
189. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003;31:32-42.
190. Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1098:216-29.
191. Wassall RR, Preshaw PM. Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontol 2000*. 2016;70(1):65-79.
192. Griffiths GS, Wilton JM, Curtis MA. Contamination of human gingival crevicular fluid by plaque and saliva. *Archives of oral biology*. 1992;37(7):559-64.
193. Taba M, Jr., Kinney J, Kim AS, Giannobile WV. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dental clinics of North America*. 2005;49(3):551-71, vi.
194. Veerman EC, van den Keybus PA, Vissink A, Nieuw Amerongen AV. Human glandular salivas: their separate collection and analysis. *European journal of oral sciences*. 1996;104(4 (Pt 1)):346-52.
195. Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontology 2000*. 2016;70(1):26-37.
196. Bulkacz J, Carranza FA. Defense Mechanisms of the Gingiva. In: CARRANZA FA, editor. *Carranza's Clinical Periodontology* 11 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2012. p. 66-70.
197. Baum BJ, Yates JR, 3rd, Srivastava S, Wong DT, Melvin JE. Scientific frontiers: emerging technologies for salivary diagnostics. *Advances in dental research*. 2011;23(4):360-8.
198. Ship JA, Pillemer SR, Baum BJ. Xerostomia and the geriatric patient. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2002;50(3):535-43.
199. Gilda JE, Keyes PH. Increased Dental Caries Activity in the Syrian Hamster Following Desalivation. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1947;66(1):28-32.
200. Shen L, Ghavamzadeh G, Shklar G. Gingival Healing in Sialadenectomized Rats. *Journal of periodontology*. 1979;50(10):533-9.
201. Gupta OP, Blechman H, Stahl SS. The effects of desalivation on periodontal tissues of the Syrian hamster. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1960;13(4):470-81.
202. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet (London, England)*. 2005;366(9499):1809-20.
203. Slaughter YA, Malamud D. Oral diagnostics for the geriatric populations: current status and future prospects. *Dental clinics of North America*. 2005;49(2):445-61.
204. Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campell CL, Humphries RL, Christodoulides N, et al. Current developments in salivary diagnostics. *Biomarkers in medicine*. 2010;4(1):171-89.

205. Vissink A, Spijkervet FK, Van Nieuw Amerongen A. Aging and saliva: a review of the literature. *Special care in dentistry : official publication of the American Association of Hospital Dentists, the Academy of Dentistry for the Handicapped, and the American Society for Geriatric Dentistry*. 1996;16(3):95-103.
206. Wu AJ, Baum BJ, Ship JA. Extended stimulated parotid and submandibular secretion in a healthy young and old population. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 1995;50a(1):M45-8.
207. Cassolato SF, Turnbull RS. Xerostomia: clinical aspects and treatment. *Gerodontology*. 2003;20(2):64-77.
208. Lima-Oliveira G, Monneret D, Guerber F, Guidi GC. Sample management for clinical biochemistry assays: Are serum and plasma interchangeable specimens? *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2018;55(7):480-500.
209. Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *Journal of periodontology*. 2005;76(11 Suppl):2106-15.
210. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2001;25(1):8-20.
211. Zekeridou A, Mombelli A, Cancela J, Courvoisier D, Giannopoulou C. Systemic inflammatory burden and local inflammation in periodontitis: What is the link between inflammatory biomarkers in serum and gingival crevicular fluid? *Clinical and experimental dental research*. 2019;5(2):128-35.
212. Chapple ILC, Genco R, workshop wgotjEA. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of clinical periodontology*. 2013;40(s14):S106-S12.
213. Davé S, Van Dyke T. The link between periodontal disease and cardiovascular disease is probably inflammation. *Oral diseases*. 2008;14(2):95-101.
214. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, et al. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *Journal of periodontology*. 1996;67(10 Suppl):1103-13.
215. Garcia RI, Nunn ME, Vokonas PS. Epidemiologic Associations Between Periodontal Disease and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Annals of periodontology*. 2001;6(1):71-7.
216. Trindade SC, Gomes-Filho IS, Meyer RJ, Vale VC, Pugliese L, Freire SM. Serum antibody levels against *Porphyromonas gingivalis* extract and its chromatographic fraction in chronic and aggressive periodontitis. *JOURNAL-INTERNATIONAL ACADEMY OF PERIODONTOLOGY*. 2008;10(2):50.
217. Craig RG, Yip JK, So MK, Boylan RJ, Socransky SS, Haffajee AD. Relationship of destructive periodontal disease to the acute-phase response. *Journal of periodontology*. 2003;74(7):1007-16.
218. Nakajima T, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Ito H, et al. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *Journal of periodontal research*. 2010;45(1):116-22.
219. Stathopoulou PG, Buduneli N, Kinane DF. Systemic Biomarkers for Periodontitis. *Current Oral Health Reports*. 2015;2(4):218-26.

220. Yoshihara A, Deguchi T, Hanada N, Miyazaki H. Relation of bone turnover markers to periodontal disease and jaw bone morphology in elderly Japanese subjects. *Oral diseases*. 2009;15(2):176-81.
221. Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, et al. Serum Levels of Cytokines in Subjects With Generalized Chronic and Aggressive Periodontitis Before and After Non-Surgical Periodontal Therapy: A Pilot Study. *Journal of periodontology*. 2010;81(7):1056-63.
222. van der Velden U. Purpose and problems of periodontal disease classification. *Periodontol 2000*. 2005;39:13-21.
223. Xiang X, Sowa MG, Iacopino AM, Maev RG, Hewko MD, Man A, et al. An Update on Novel Non-Invasive Approaches for Periodontal Diagnosis. *Journal of periodontology*. 2010;81(2):186-98.
224. Silness J, Loe H. Periodontal Disease in Pregnancy II. Correlation Between Oral Hygiene and Periodontal Condition. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1964;22(1):121-35.
225. Loe H, Silness J. PERIODONTAL DISEASE IN PREGNANCY. I. PREVALENCE AND SEVERITY. *Acta Odontol Scand*. 1963;21:533-51.
226. Joss A, Adler R, Lang NP. Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *Journal of clinical periodontology*. 1994;21(6):402-8.
227. Guest PC, Rahmoune H. Blood Sampling and Preparation Procedures for Proteomic Biomarker Studies of Psychiatric Disorders. *Advances in experimental medicine and biology*. 2017;974:141-7.
228. Hatipoğlu H. Potential Factors Which Affect Gingival Crevicular Fluid Sampling Procedures. *EÜ Dışhekim Fak Derg*. 2010;31(2):69-81.
229. Griffiths GS, Moulson AM, Petrie A, James IT. Evaluation of osteocalcin and pyridinium crosslinks of bone collagen as markers of bone turnover in gingival crevicular fluid during different stages of orthodontic treatment. *Journal of clinical periodontology*. 1998;25(6):492-8.
230. Bevilacqua L, Biasi MD, Lorenzon MG, Frattini C, Angerame D. Volumetric Analysis of Gingival Crevicular Fluid and Peri-Implant Sulcus Fluid in Healthy and Diseased Sites: A Cross-Sectional Split-Mouth Pilot Study. *The open dentistry journal*. 2016;10:131-8.
231. Chapple IL, Landini G, Griffiths GS, Patel NC, Ward RS. Calibration of the Periotron 8000 and 6000 by polynomial regression. *Journal of periodontal research*. 1999;34(2):79-86.
232. NAVAZESH M. Methods for Collecting Saliva. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1993;694(1):72-7.
233. Navazesh M, Christensen C. A Comparison of Whole Mouth Resting and Stimulated Salivary Measurement Procedures. *Journal of dental research*. 1982;61:1158-62.

234. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica Chimica Acta*. 2007;383(1):30-40.
235. World Health Organization. Diagnostic I, Laboratory T. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Geneva: World Health Organization; 2002.
236. de Jager W, Bourcier K, Rijkers GT, Prakken BJ, Seyfert-Margolis V. Prerequisites for cytokine measurements in clinical trials with multiplex immunoassays. *BMC immunology*. 2009;10(1):1-11.
237. Levin KA. Study design III: Cross-sectional studies. *Evidence-based dentistry*. 2006;7(1):24-5.
238. Wolff L, Dahlén G, Aepli D. Bacteria as risk markers for periodontitis. *Journal of periodontology*. 1994;65(5 Suppl):498-510.
239. Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. Principles of periodontology. *Periodontol 2000*. 2013;61(1):16-53.
240. Kinane DF, Peterson M, Stathopoulou PG. Environmental and other modifying factors of the periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2006;40:107-19.
241. Falcao A, Bullón P. A review of the influence of periodontal treatment in systemic diseases. *Periodontol 2000*. 2019;79(1):117-28.
242. Tonetti MS, Van Dyke TE. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of periodontology*. 2013;84(4 Suppl):S24-9.
243. Sezer U, Şenyurt SZ, Özdemir E, Zengin O, Üstün K, Erciyas K, et al. Relationship between periodontal destruction and gene mutations in patients with familial Mediterranean fever. *Clinical rheumatology*. 2016;35(7):1841-7.
244. Herrmann JM, Sonnenschein SK, Groeger SE, Ewald N, Arneth B, Meyle J. Refractory neutrophil activation in type 2 diabetics with chronic periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2020;55(2):315-23.
245. Garcia RI, Henshaw MM, Krall EA. Relationship between periodontal disease and systemic health. *Periodontol 2000*. 2001;25:21-36.
246. Cullinan MP, Seymour GJ. Periodontal disease and systemic illness: will the evidence ever be enough? *Periodontol 2000*. 2013;62(1):271-86.
247. Özçaka O, Biçakci N, Pussinen P, Sorsa T, Köse T, Buduneli N. Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. *Oral diseases*. 2011;17(1):68-76.
248. Cetinkaya B, Guzeldemir E, Ogus E, Bulut S. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2013;84(1):84-93.
249. Ustün K, Alptekin NO. The effect of tobacco smoking on gingival crevicular fluid volume. *European journal of dentistry*. 2007;1(4):236-9.
250. Buduneli N, Becerik S, Buduneli E, Baylas H, Kinnby B. Gingival status, crevicular fluid tissue-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor-2 levels in pregnancy versus post-partum. *Australian dental journal*. 2010;55(3):292-7.

251. Holm-Pedersen P, Løe H. Flow of gingival exudate as related to menstruation and pregnancy. *Journal of periodontal research*. 1967;2(1):13-20.
252. Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *Journal of clinical periodontology*. 2003;30(2):145-53.
253. Javed F, Al-Kheraif AA, Al Amri MD, Alshehri M, Vohra F, Al-Askar M, et al. Periodontal Status and Whole Salivary Cytokine Profile Among Smokers and Never-Smokers With and Without Prediabetes. *Journal of periodontology*. 2015;86(7):890-8.
254. Al-Ghamdi HS, Anil S. Serum antibody levels in smoker and non-smoker saudi subjects with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2007;78(6):1043-50.
255. Albandar JM, Streckfus CF, Adesanya MR, Winn DM. Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. *Journal of periodontology*. 2000;71(12):1874-81.
256. Mayer Y, Balbir-Gurman A, Machtei EE. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy and periodontal parameters in patients with rheumatoid arthritis. *Journal of periodontology*. 2009;80(9):1414-20.
257. Pähkla ER, Koppel T, Saag M, Pähkla R. Metronidazole concentrations in plasma, saliva and periodontal pockets in patients with periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32(2):163-6.
258. Üstün K, Erciyas K, Kısacık B, Sezer U, Pehlivan Y, Öztuzcu S, et al. Host modulation in rheumatoid arthritis patients with TNF blockers significantly decreases biochemical parameters in periodontitis. *Inflammation*. 2013;36(5):1171-7.
259. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian dental journal*. 2009;54 Suppl 1:S11-26.
260. Nalmpantis D, Gatou A, Fragkioudakis I, Margariti A, Skoura L, Sakellari D. Azurocidin in gingival crevicular fluid as a potential biomarker of chronic periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2020;55(2):209-14.
261. Holla LI, Musilova K, Vokurka J, Klapusová L, Pantuckova P, Kukletova M, et al. Association of interleukin-6 (IL-6) haplotypes with plaque-induced gingivitis in children. *Acta Odontol Scand*. 2008;66(2):105-12.
262. Vokurka J, Klapusová L, Pantuckova P, Kukletova M, Kukla L, Holla LI. The association of MMP-9 and IL-18 gene promoter polymorphisms with gingivitis in adolescents. *Archives of oral biology*. 2009;54(2):172-8.
263. Toyman U, Tüter G, Kurtiş B, Kıvrak E, Bozkurt Ş, Yücel AA, et al. Evaluation of gingival crevicular fluid levels of tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor 2, matrix metalloproteinase-3 and interleukin 1- β in patients with different periodontal diseases. *Journal of periodontal research*. 2015;50(1):44-51.
264. Zhang Q, Chen B, Zhu D, Yan F. Biomarker levels in gingival crevicular fluid of subjects with different periodontal conditions: A cross-sectional study. *Archives of oral biology*. 2016;72:92-8.

265. Silness J, Loe H. PERIODONTAL DISEASE IN PREGNANCY. II. CORRELATION BETWEEN ORAL HYGIENE AND PERIODONTAL CONDITON. *Acta odontologica Scandinavica*. 1964;22:121-35.
266. Emingil G, Cinarcik S, Baylas H, Hüseyinov A. Levels of platelet-activating factor in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 2001;72(8):1032-7.
267. Akalin FA, Toklu E, Renda N. Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32(3):238-43.
268. Becerik S, Öztürk VÖ, Celec P, Kamodyova N, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma oxidative stress markers and TGM-2 levels in chronic periodontitis. *Archives of oral biology*. 2017;83:47-54.
269. Kurşunlu SF, Öztürk VÖ, Han B, Atmaca H, Emingil G. Gingival crevicular fluid interleukin-36 β (-1F8), interleukin-36 γ (-1F9) and interleukin-33 (-1F11) levels in different periodontal disease. *Archives of oral biology*. 2015;60(1):77-83.
270. Papathanasiou E, Teles F, Griffin T, Arguello E, Finkelman M, Hanley J, et al. Gingival crevicular fluid levels of interferon- γ , but not interleukin-4 or -33 or thymic stromal lymphopoietin, are increased in inflamed sites in patients with periodontal disease. *Journal of periodontal research*. 2014;49(1):55-61.
271. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *Journal of periodontology*. 2007;78:1387-99.
272. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *Journal of periodontology*. 1999;70(1):13-29.
273. Kingman A, Albandar JM. Methodological aspects of epidemiological studies of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2002;29:11-30.
274. Emingil G, Atilla G, Başkesen A, Berdeli A. Gingival crevicular fluid EMAP-II, MIP-1 α and MIP-1 β levels of patients with periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32(8):880-5.
275. Ertugrul AS, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan N, Bozoglan A. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2013;48(1):44-51.
276. Hancock EB. Determination of periodontal disease activity. *Journal of periodontology*. 1981;52(9):492-9.
277. Ramenzoni LL, Lehner MP, Kaufmann ME, Wiedemeier D, Attin T, Schmidlin PR. Oral Diagnostic Methods for the Detection of Periodontal Disease. *Diagnostics*. 2021;11(3):571.
278. Smith AJ. Diagnostic tests for periodontal disease activity. *Dental update*. 1995;22(4):140-4.
279. Erdemir EO, Duran I, Haliloglu S. Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in patients with chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2004;31(2):99-104.

280. Rawlinson A, Grummitt JM, Walsh TF, Ian Douglas CW. Interleukin 1 and receptor antagonist levels in gingival crevicular fluid in heavy smokers versus non-smokers. *Journal of clinical periodontology*. 2003;30(1):42-8.
281. Reinhardt RA, Stoner JA, Golub LM, Lee HM, Nummikoski PV, Sorsa T, et al. Association of gingival crevicular fluid biomarkers during periodontal maintenance with subsequent progressive periodontitis. *Journal of periodontology*. 2010;81(2):251-9.
282. Kinney JS, Morelli T, Oh M, Braun TM, Ramseier CA, Sugai JV, et al. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. *Journal of clinical periodontology*. 2014;41(2):113-20.
283. Cimasoni G. Crevicular fluid updated. *Monographs in oral science*. 1983;12:iii-vii, 1-152.
284. Winstein E. Studies of gingival fluid. *Periodontics*. 1967;5:161-6.
285. Golub LM, Kleinberg I. Gingival crevicular fluid: a new diagnostic aid in managing the periodontal patient. *Oral sciences reviews*. 1976(8):49-61.
286. Lamster IB, Grbic JT. Diagnosis of periodontal disease based on analysis of the host response. *Periodontol 2000*. 1995;7:83-99.
287. Thunell DH, Tymkiw KD, Johnson GK, Joly S, Burnell KK, Cavanaugh JE, et al. A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *Journal of periodontal research*. 2010;45(1):148-52.
288. Sezen D, Hatipoğlu M, Üstün K. Evaluation of the clinical and biochemical efficacy of erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet (ER,Cr:YSGG) laser treatment in periodontitis. *Lasers in medical science*. 2020;35(7):1567-75.
289. Tsuchida K, Hara K. Clinical Significance of Gingival Fluid Measurement by "Periotron". *Journal of periodontology*. 1981;52(11):697-700.
290. Oates TW, Graves DT, Cochran DL. Clinical, radiographic and biochemical assessment of IL-1/TNF-alpha antagonist inhibition of bone loss in experimental periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2002;29(2):137-43.
291. Hattingh J, Ho E. The concentration of proteins in human gingival crevicular fluid. *Journal of periodontal research*. 1980;15(1):90-5.
292. Deinzer R, Mossanen BS, Herforth A. Methodological considerations in the assessment of gingival crevicular fluid volume. *Journal of clinical periodontology*. 2000;27(7):481-8.
293. Ozkavaf A, Aras H, Huri CB, Mottaghian-Dini F, Tözüm TF, Etikan I, et al. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *Journal of oral science*. 2000;42(4):231-8.
294. Awawdeh LA, Lundy FT, Linden GJ, Shaw C, Kennedy JG, Lamey PJ. Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid associated with painful human teeth. *European journal of oral sciences*. 2002;110(3):185-91.

295. Kowashi Y, Jaccard F, Cimasoni G. Sulcular polymorphonuclear leucocytes and gingival exudate during experimental gingivitis in man. *Journal of periodontal research*. 1980;15(2):151-8.
296. Reinhardt RA, Masada MP, Kaldahl WB, DuBois LM, Kornman KS, Choi JJ, et al. Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 1993;20(3):225-31.
297. Sakellari D, Goodson JM, Kolokotronis A, Konstantinidis A. Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva. *Journal of clinical periodontology*. 2000;27(1):53-60.
298. Becerik S, Öztürk V, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 2012;83(10):1304-13.
299. Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *Journal of periodontology*. 1995;66(10):852-9.
300. Ay ZY, Yılmaz G, Ozdem M, Koçak H, Sütçü R, Uskun E, et al. The gingival crevicular fluid levels of interleukin-11 and interleukin-17 in patients with aggressive periodontitis. *Journal of periodontology*. 2012;83(11):1425-31.
301. Hancock EB, Cray RJ, O'Leary TJ. The relationship between gingival crevicular fluid and gingival inflammation. A clinical and histologic study. *Journal of periodontology*. 1979;50(1):13-9.
302. Griffiths GS, Sterne JA, Wilton JM, Eaton KA, Johnson NW. Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents. *Journal of clinical periodontology*. 1992;19(7):464-70.
303. Ito H, Numabe Y, Hashimoto S, Sekino S, Murakashi E, Ishiguro H, et al. Correlation Between Gingival Crevicular Fluid Hemoglobin Content and Periodontal Clinical Parameters. *Journal of periodontology*. 2016;87(11):1314-9.
304. Buchmann R, Hasilik A, Van Dyke TE, Lange DE. Resolution of crevicular fluid leukocyte activity in patients treated for aggressive periodontal disease. *Journal of periodontology*. 2002;73(9):995-1002.
305. Zhang L, Henson BS, Camargo PM, Wong DT. The clinical value of salivary biomarkers for periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2009;51(1):25-37.
306. Cortelli SC, Feres M, Rodrigues AA, Aquino DR, Shibli JA, Cortelli JR. Detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in unstimulated saliva of patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2005;76(2):204-9.
307. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva--a review. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*. 2002;13(2):197-212.
308. Henskens YM, van den Keijbus PA, Veerman EC, Van der Weijden GA, Timmerman MF, Snoek CM, et al. Protein composition of whole and parotid saliva in healthy and periodontitis subjects. Determination of cystatins, albumin, amylase and IgA. *Journal of periodontal research*. 1996;31(1):57-65.

309. Glimvall P, Wickström C, Jansson H. Elevated levels of salivary lactoferrin, a marker for chronic periodontitis? *Journal of periodontal research*. 2012;47(5):655-60.
310. Dawes C. The effects of flow rate and duration of stimulation on the concentrations of protein and the main electrolytes in human parotid saliva. *Archives of oral biology*. 1969;14(3):277-94.
311. SHANNON L. The biochemistry of human saliva in health and disease. In: N. H. Rowe, editor. *Salivary Glands and Their Secretions* 94-121 ed. Ann Arbor.: University of Michigan Press. ; 1972.
312. Han P, Ivanovski S. Effect of Saliva Collection Methods on the Detection of Periodontium-Related Genetic and Epigenetic Biomarkers-A Pilot Study. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(19):4729.
313. Michishige F, Kanno K, Yoshinaga S, Hinode D, Takehisa Y, Yasuoka S. Effect of saliva collection method on the concentration of protein components in saliva. *The journal of medical investigation : JMI*. 2006;53(1-2):140-6.
314. Amano A. Host-parasite interactions in periodontitis: microbial pathogenicity and innate immunity. *Periodontol 2000*. 2010;54(1):9-14.
315. Chapple IL, Genco R. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of periodontology*. 2013;84(4 Suppl):S106-12.
316. Andrukhov O, Ulm C, Reischl H, Nguyen PQ, Matejka M, Rausch-Fan X. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. *Journal of periodontology*. 2011;82(6):885-92.
317. Gümüş P, Nizam N, Nalbantsoy A, Özçaka Ö, Buduneli N. Saliva and serum levels of pentraxin-3 and interleukin-1 β in generalized aggressive or chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2014;85(3):e40-6.
318. Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, et al. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. *Journal of periodontology*. 2010;81(7):1056-63.
319. Renvert S, Lindahl C, Roos-Jansåker AM, Lessem J. Short-term effects of an anti-inflammatory treatment on clinical parameters and serum levels of C-reactive protein and proinflammatory cytokines in subjects with periodontitis. *Journal of periodontology*. 2009;80(6):892-900.
320. Mooney J, Kinane DF. Humoral immune responses to *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis and rapidly progressive periodontitis. *Oral microbiology and immunology*. 1994;9(6):321-6.
321. West-Nielsen M, Høgdall EV, Marchiori E, Høgdall CK, Schou C, Heegaard NH. Sample handling for mass spectrometric proteomic investigations of human sera. *Analytical chemistry*. 2005;77(16):5114-23.
322. Hsieh S-Y, Chen R-K, Pan Y-H, Lee H-L. Systematical evaluation of the effects of sample collection procedures on low-molecular-weight serum/plasma proteome profiling. *PROTEOMICS*. 2006;6(10):3189-98.

323. Luque-Garcia JL, Neubert TA. Sample preparation for serum/plasma profiling and biomarker identification by mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2007;1153(1-2):259-76.
324. Fuller HR, Goodwin PR, Morris GE. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the major crustacean allergen, tropomyosin, in food. *Food and Agricultural Immunology*. 2006;17(1):43-52.
325. Pamuk F, Lütfoğlu M, Aydoğdu A, Koyuncuoglu CZ, Cifcibasi E, Badur OS. The effect of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of transforming growth factor-beta 1, tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 in smoking and non-smoking chronic periodontitis patients: A split-mouth, randomized control study. *Journal of periodontal research*. 2017;52(5):872-82.
326. Wu Y, Chen L, Wei B, Luo K, Yan F. Effect of non-surgical periodontal treatment on visfatin concentrations in serum and gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *Journal of periodontology*. 2015;86(6):795-800.
327. Singh N, Chander Narula S, Kumar Sharma R, Tewari S, Kumar Sehgal P. Vitamin E supplementation, superoxide dismutase status, and outcome of scaling and root planing in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *Journal of periodontology*. 2014;85(2):242-9.
328. Nakamura T, Kido J, Kido R, Ohishi K, Yamauchi N, Kataoka M, et al. The association of calprotectin level in gingival crevicular fluid with gingival index and the activities of collagenase and aspartate aminotransferase in adult periodontitis patients. *Journal of periodontology*. 2000;71(3):361-7.
329. Konstantinou GN. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Methods Mol Biol*. 2017;1592:79-94.
330. Westerlund U, Ingman T, Lukinmaa PL, Salo T, Kjeldsen L, Borregaard N, et al. Human neutrophil gelatinase and associated lipocalin in adult and localized juvenile periodontitis. *Journal of dental research*. 1996;75(8):1553-63.
331. Teng YT, Sodek J, McCulloch CA. Gingival crevicular fluid gelatinase and its relationship to periodontal disease in human subjects. *Journal of periodontal research*. 1992;27(5):544-52.
332. Ertugrul AS, Dursun R, Dundar N, Avunduk MC, Hakki SS. MMP-1, MMP-9, and TIMP-1 levels in oral lichen planus patients with gingivitis or periodontitis. *Archives of oral biology*. 2013;58(7):843-52.
333. Gonçalves PF, Huang H, McAninley S, Alfant B, Harrison P, Aukhil I, et al. Periodontal treatment reduces matrix metalloproteinase levels in localized aggressive periodontitis. *Journal of periodontology*. 2013;84(12):1801-8.
334. Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *Journal of clinical periodontology*. 1996;23(12):1127-32.
335. Peniche-Palma DC, Carrillo-Avila BA, Sauri-Esquivel EA, Acosta-Viana K, Esparza-Villalpando V, Pozos-Guillen A, et al. Levels of Myeloperoxidase and Metalloproteinase-9 in Gingival Crevicular Fluid from Diabetic Subjects with and

without Stage 2, Grade B Periodontitis. *BioMed research international*. 2019;2019:5613514.

336. Rai B, Kaur J, Jain R, Anand SC. Levels of gingival crevicular metalloproteinases-8 and -9 in periodontitis. *The Saudi dental journal*. 2010;22(3):129-31.

337. Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *Journal of oral science*. 2008;50(1):53-6.

338. Romero-Castro NS, Vázquez-Villamar M, Muñoz-Valle JF, Reyes-Fernández S, Serna-Radilla VO, García-Arellano S, et al. Relationship between TNF- α , MMP-8, and MMP-9 levels in gingival crevicular fluid and the subgingival microbiota in periodontal disease. *Odontology*. 2020;108(1):25-33.

339. Victor DJ, Subramanian S, Gnana PP, Kolagani SP. Assessment of Matrix Metalloproteinases-8 and -9 in Gingival Crevicular Fluid of Smokers and Non-smokers with Chronic Periodontitis Using ELISA. *Journal of international oral health : JIOH*. 2014;6(6):67-71.

340. Beklen A, Tüter G, Sorsa T, Hanemaaijer R, Virtanen I, Tervahartiala T, et al. Gingival tissue and crevicular fluid co-operation in adult periodontitis. *Journal of dental research*. 2006;85(1):59-63.

341. Maeso G, Bravo M, Bascones A. Levels of metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis, gingivitis, and healthy gingiva. *Quintessence International*. 2007;38(3):247-52.

342. Kushlinskii NE, Solovykh EA, Karaoglanova TB, Bayar U, Gershtein ES, Troshin AA, et al. Content of matrix metalloproteinase-8 and matrix metalloproteinase-9 in oral fluid of patients with chronic generalized periodontitis. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2011;152(2):240-4.

343. Gursoy UK, Könönen E, Huuonen S, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Suominen AL, et al. Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2013;40(1):18-25.

344. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, et al. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *Journal of periodontology*. 2009;80(3):436-46.

345. Nędzi-Góra M, Kostrzewa-Janicka J, Górka R. Elastase and metalloproteinase-9 concentrations in saliva in patients with chronic periodontitis. *Central-European journal of immunology*. 2014;39(3):357-64.

346. Li G, Yue Y, Tian Y, Li J-l, Wang M, Liang H, et al. Association of matrix metalloproteinase (MMP)-1, 3, 9, interleukin (IL)-2, 8 and cyclooxygenase (COX)-2 gene polymorphisms with chronic periodontitis in a Chinese population. *Cytokine*. 2012;60(2):552-60.

347. Marcaccini AM, Novaes AB, Jr., Meschiari CA, Souza SL, Palioto DB, Sorgi CA, et al. Circulating matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy.

Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2009;409(1-2):117-22.

348. Virtanen E, Yakob M, Tervahartiala T, Söder P, Andersson LC, Sorsa T, et al. Salivary MMP-13 gender differences in periodontitis: A cross-sectional study from Sweden. *Clinical and experimental dental research*. 2017;3(5):165-70.

349. Türkoğlu O, Barış N, Tervahartiala T, Şenarslan Ö, Sorsa T, Atilla G. Evaluation of systemic levels of neutrophilic enzymes in patients with hypertension and chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2014;85(7):908-16.

350. Al-Khureif AA, Mohamed BA, Siddiqui AZ, Khan AA, Divakar DD. Repeated application of photodynamic and antibiotic therapy as an adjunct to root surface debridement in patients with grade C and stage III or IV aggressive periodontitis. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. 2020;29:101610.

351. Al-Momani MM. Indocyanine-mediated antimicrobial photodynamic therapy promotes superior clinical effects in stage III and grade C chronic periodontitis among controlled and uncontrolled diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. 2021;35:102379.

352. Buduneli N, Buduneli E, Kütükçüler N. Interleukin-17, RANKL, and osteoprotegerin levels in gingival crevicular fluid from smoking and non-smoking patients with chronic periodontitis during initial periodontal treatment. *Journal of periodontology*. 2009;80(8):1274-80.

353. Emingil G, Gürkan A, Atilla G, Kantarci A. Subantimicrobial-dose doxycycline and cytokine-chemokine levels in gingival crevicular fluid. *Journal of periodontology*. 2011;82(3):452-61.

354. Erdemir EO, Hendek MK, Keceli HG, Apan TZ. Crevicular fluid levels of interleukin-8, interleukin-17 and soluble intercellular adhesion molecule-1 after regenerative periodontal therapy. *European journal of dentistry*. 2015;9(1):60-5.

355. Gümüş P, Buduneli E, Bıykoğlu B, Aksu K, Saraç F, Nile C, et al. Gingival crevicular fluid, serum levels of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, osteoprotegerin, and interleukin-17 in patients with rheumatoid arthritis and osteoporosis and with periodontal disease. *Journal of periodontology*. 2013;84(11):1627-37.

356. Lecio G, Ribeiro FV, Pimentel SP, Reis AA, da Silva RVC, Nociti-Jr F, et al. Novel 20% doxycycline-loaded PLGA nanospheres as adjunctive therapy in chronic periodontitis in type-2 diabetics: randomized clinical, immune and microbiological trial. *Clinical oral investigations*. 2020;24(3):1269-79.

357. Lütfoğlu M, Sakallıoğlu U, Sakallıoğlu EE, Özden FO, Ürkmez SS, Bilgici B. Effects of smoking on the gingival crevicular fluid levels of interleukin-17A, interleukin-17E, and oxidative stress following periodontal treatment process. *Journal of periodontal research*. 2021;56(2):388-96.

358. Mendonça AC, Santos VR, Ribeiro FV, Lima JA, Miranda TS, Feres M, et al. Surgical and non-surgical therapy with systemic antimicrobials for residual pockets in type 2 diabetics with chronic periodontitis: a pilot study. *Journal of clinical periodontology*. 2012;39(4):368-76.

359. Miranda TS, Figueiredo NF, Figueiredo LC, Silva H, Rocha FRG, Duarte PM. Cytokine profiles of healthy and diseased sites in individuals with periodontitis. *Archives of oral biology*. 2020;120:104957.
360. Mistry A, Pereira R, Kini V, Padhye A. Effect of Combined Therapy Using Diode Laser and Photodynamic Therapy on Levels of IL-17 in Gingival Crevicular Fluid in Patients With Chronic Periodontitis. *Journal of lasers in medical sciences*. 2016;7(4):250-5.
361. Mitani A, Niedbala W, Fujimura T, Mogi M, Miyamae S, Higuchi N, et al. Increased expression of interleukin (IL)-35 and IL-17, but not IL-27, in gingival tissues with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2015;86(2):301-9.
362. Monteiro MF, Tonelli H, Reis AA, Casati MZ, Silvério KG, Nociti Junior FH, et al. Triclosan toothpaste as an adjunct therapy to plaque control in children from periodontitis families: a crossover clinical trial. *Clinical oral investigations*. 2020;24(4):1421-30.
363. Pradeep AR, Hadge P, Chowdhry S, Patel S, Happy D. Exploring the role of Th1 cytokines: interleukin-17 and interleukin-18 in periodontal health and disease. *Journal of oral science*. 2009;51(2):261-6.
364. Ribeiro FV, de Mendonça AC, Santos VR, Bastos MF, Figueiredo LC, Duarte PM. Cytokines and bone-related factors in systemically healthy patients with chronic periodontitis and patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2011;82(8):1187-96.
365. Sadeghi R, Sattari M, Dehghan F, Akbari S. Interleukin-17 and interleukin-23 levels in gingival crevicular fluid of patients with chronic and aggressive periodontitis. *Central-European journal of immunology*. 2018;43(1):76-80.
366. Santos VR, Ribeiro FV, Lima JA, Miranda TS, Feres M, Bastos MF, et al. Partial- and full-mouth scaling and root planing in type 2 diabetic subjects: a 12-mo follow-up of clinical parameters and levels of cytokines and osteoclastogenesis-related factors. *Journal of periodontal research*. 2012;47(1):45-54.
367. Santos VR, Ribeiro FV, Lima JA, Napimoga MH, Bastos MF, Duarte PM. Cytokine levels in sites of chronic periodontitis of poorly controlled and well-controlled type 2 diabetic subjects. *Journal of clinical periodontology*. 2010;37(12):1049-58.
368. Stadler AF, Angst PD, Arce RM, Gomes SC, Oppermann RV, Susin C. Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Journal of clinical periodontology*. 2016;43(9):727-45.
369. Teymouri F, Farhad SZ, Golestaneh H. The Effect of Photodynamic Therapy and Diode Laser as Adjunctive Periodontal Therapy on the Inflammatory Mediators Levels in Gingival Crevicular Fluid and Clinical Periodontal Status. *Journal of dentistry (Shiraz, Iran)*. 2016;17(3):226-32.
370. Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Antonieta Valenzuela M, Gamonal J. Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32(4):383-9.

371. Zekeridou A, Giannopoulou C, Cancela J, Courvoisier D, Mombelli A. Effect of initial periodontal therapy on gingival crevicular fluid cytokine profile in subjects with chronic periodontitis. *Clinical and experimental dental research*. 2017;3(2):62-8.
372. Zhang H, Zhang Y, Chen X, Li J, Zhang Z, Yu H. Effects of statins on cytokines levels in gingival crevicular fluid and saliva and on clinical periodontal parameters of middle-aged and elderly patients with type 2 diabetes mellitus. *PloS one*. 2021;16(1):e0244806.
373. Zhao L, Zhou Y, Xu Y, Sun Y, Li L, Chen W. Effect of non-surgical periodontal therapy on the levels of Th17/Th1/Th2 cytokines and their transcription factors in Chinese chronic periodontitis patients. *Journal of clinical periodontology*. 2011;38(6):509-16.
374. Yetkin Ay Z, Sütçü R, Uskun E, Bozkurt F, Berker E. The impact of the IL-11:IL-17 ratio on the chronic periodontitis pathogenesis: a preliminary report. *Oral diseases*. 2009;15(1):93-9.
375. Fu QY, Zhang L, Duan L, Qian SY, Pang HX. Correlation of chronic periodontitis in tropical area and IFN- γ , IL-10, IL-17 levels. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 2013;6(6):489-92.
376. Cifcibasi E, Koyuncuoglu C, Ciblak M, Badur S, Kasali K, Firatli E, et al. Evaluation of Local and Systemic Levels of Interleukin-17, Interleukin-23, and Myeloperoxidase in Response to Periodontal Therapy in Patients with Generalized Aggressive Periodontitis. *Inflammation*. 2015;38(5):1959-68.
377. Zhao S, Cheng Y, Kim JG. microRNA-146a downregulates IL-17 and IL-35 and inhibits proliferation of human periodontal ligament stem cells. *Journal of cellular biochemistry*. 2019;120(8):13861-6.
378. Isaza-Guzmán DM, Cardona-Vélez N, Gaviria-Correa DE, Martínez-Pabón MC, Castaño-Granada MC, Tobón-Arroyave SI. Association study between salivary levels of interferon (IFN)-gamma, interleukin (IL)-17, IL-21, and IL-22 with chronic periodontitis. *Archives of oral biology*. 2015;60(1):91-9.
379. Marques CP, Victor EC, Franco MM, Fernandes JM, Maor Y, de Andrade MS, et al. Salivary levels of inflammatory cytokines and their association to periodontal disease in systemic lupus erythematosus patients. A case-control study. *Cytokine*. 2016;85:165-70.
380. Prakasam S, Srinivasan M. Evaluation of salivary biomarker profiles following non-surgical management of chronic periodontitis. *Oral diseases*. 2014;20(2):171-7.
381. Yang X, Li C, Pan Y. The Influences of Periodontal Status and Periodontal Pathogen Quantity on Salivary 8-Hydroxydeoxyguanosine and Interleukin-17 Levels. *Journal of periodontology*. 2016;87(5):591-600.
382. Batool H, Nadeem A, Kashif M, Shahzad F, Tahir R, Afzal N. Salivary Levels of IL-6 and IL-17 Could Be an Indicator of Disease Severity in Patients with Calculus Associated Chronic Periodontitis. *BioMed research international*. 2018;2018:8531961.
383. İnönü E, Kayis SA, Eskin MA, Hakki SS. Salivary Del-1, IL-17, and LFA-1 levels in periodontal health and disease. *Journal of periodontal research*. 2020;55(4):511-8.

384. Ding W, Xiao Z, Wen C, Ge C, Liu L, Xu K, et al. Correlation between salivary developmental endothelial locus-1, interleukin 17 expression level and severity of periodontal disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *American journal of translational research*. 2021;13(10):11704-10.
385. Özçaka O, Nalbantsoy A, Buduneli N. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in saliva and plasma of patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2011;46(5):592-8.
386. Schenkein HA, Koertge TE, Brooks CN, Sabatini R, Purkall DE, Tew JG. IL-17 in sera from patients with aggressive periodontitis. *Journal of dental research*. 2010;89(9):943-7.
387. Su X, Zhang J, Qin X. CD40 up-regulation on dendritic cells correlates with Th17/Treg imbalance in chronic periodontitis in young population. *Innate immunity*. 2020;26(6):482-9.
388. Awang RA, Lappin DF, MacPherson A, Riggio M, Robertson D, Hodge P, et al. Clinical associations between IL-17 family cytokines and periodontitis and potential differential roles for IL-17A and IL-17E in periodontal immunity. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society [et al]*. 2014;63(12):1001-12.
389. Nile CJ, Apatzidou DA, Awang RA, Riggio MP, Kinane DF, Lappin DF. The effect of periodontal scaling and root polishing on serum IL-17E concentrations and the IL-17A:IL-17E ratio. *Clinical oral investigations*. 2016;20(9):2529-37.
390. Martins ES, César-Neto JB, Albuquerque-Souza E, Rebeis ES, Holzhausen M, Pannuti CM, et al. One-year follow-up of the immune profile in serum and selected sites of generalized and localized aggressive periodontitis. *Cytokine*. 2019;116:27-37.
391. Babaloo AR, Shirmohammadi A, Sandoghchian S, Kamalzadeh A, Ghasemi S. Evaluation of the effect of IL-36 γ expression on chronic periodontitis by enhancing the MAPK and TLR4 signaling pathways: A basic research. *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects*. 2018;12(3):159-65.
392. Cloitre A, Halgand B, Sourice S, Caillon J, Huck O, Bugueno IM, et al. IL-36 γ is a pivotal inflammatory player in periodontitis-associated bone loss. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-12.
393. Heath JE, Scholz GM, Veith PD, Reynolds EC. IL-36 γ regulates mediators of tissue homeostasis in epithelial cells. *Cytokine*. 2019;119:24-31.
394. Kurşunlu SF, Oztürk V, Han B, Atmaca H, Emingil G. Gingival crevicular fluid interleukin-36 β (-1F8), interleukin-36 γ (-1F9) and interleukin-33 (-1F11) levels in different periodontal disease. *Archives of oral biology*. 2015;60(1):77-83.
395. Hayran Y, Allı N, Yücel Ç, Akdoğan N, Turhan T. Serum IL-36 α , IL-36 β , and IL-36 γ levels in patients with hidradenitis suppurativa: association with disease characteristics, smoking, obesity, and metabolic syndrome. *Archives of dermatological research*. 2020;312(3):187-96.
396. Mai SZ, Li CJ, Xie XY, Xiong H, Xu M, Zeng FQ, et al. Increased serum IL-36 α and IL-36 γ levels in patients with systemic lupus erythematosus: Association with disease activity and arthritis. *International immunopharmacology*. 2018;58:103-8.

397. Boutet MA, Najm A, Bart G, Brion R, Touchais S, Trichet V, et al. IL-38 overexpression induces anti-inflammatory effects in mice arthritis models and in human macrophages in vitro. *Annals of the rheumatic diseases*. 2017;76(7):1304-12.
398. Ge Y, Huang M, Wu Y, Dong N, Yao Y-M. Interleukin 38 protects against sepsis by augmenting immunosuppressive activity of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2019;24:2027 - 39.
399. Yang N, Song Y, Dong B, Li Y, Kou L, Yang J, et al. Elevated Interleukin-38 Level Associates with Clinical Response to Atorvastatin in Patients with Hyperlipidemia. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2018;49(2):653-61.
400. Gurău F, Silvestrini A, Matacchione G, Fazioli F, Bonfigli AR, Olivieri F, et al. Plasma levels of interleukin-38 in healthy aging and in type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*. 2021;171:108585.
401. Xu WD, Su LC, He CS, Huang AF. Plasma interleukin-38 in patients with rheumatoid arthritis. *International immunopharmacology*. 2018;65:1-7.
402. Abassifard M, Khorramdelazad H, Rezaee S, Jafarzadeh A. Higher Circulating Concentration of Interleukin-38 in Patients with Knee Osteoarthritis: Its Association with Disease Severity. *Iranian journal of allergy, asthma, and immunology*. 2021;20(1):114-9.
403. Beklen A, Ainola M, Hukkanen M, Gürkan C, Sorsa T, Kontinen YT. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis. *Journal of dental research*. 2007;86(4):347-51.
404. Tan J, Dai A, Pan L, Zhang L, Wang Z, Ke T, et al. Inflamm-Aging-Related Cytokines of IL-17 and IFN- γ Accelerate Osteoclastogenesis and Periodontal Destruction. *Journal of immunology research*. 2021;2021:9919024.
405. Nguyen LM, Chon JJ, Kim EE, Cheng JC, Ebersole JL. Biological Aging and Periodontal Disease: Analysis of NHANES (2001-2002). *JDR clinical and translational research*. 2021:2380084421995812.
406. Ebersole JL, Graves CL, Gonzalez OA, Dawson D, 3rd, Morford LA, Huja PE, et al. Aging, inflammation, immunity and periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2016;72(1):54-75.
407. Persson GR. Periodontal complications with age. *Periodontol 2000*. 2018;78(1):185-94.
408. Hanioka T, Matsuse R, Shigemoto Y, Ojima M, Shizukuishi S. Relationship between periodontal disease status and combination of biochemical assays of gingival crevicular fluid. *Journal of periodontal research*. 2005;40(4):331-8.



ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Katılımcı / Gönüllünün Protokol Numarası:

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

a. Araştırmanın Adı:

Periodontal açıdan sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerin serum, tükürük ve diş eti oluğu sıvısı örneklerinde IL-36γ, IL-38, IL-17 ve MMP-9 düzeylerinin değerlendirilmesi.

b. Araştırmanın İçeriği:

Araştırmada hastalık teşhisi için Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Kliniği'ne gelen her hastaya yapılan rutin muayene işlemleri uygulanacak ve periodontal hastalığa sahip bireyler ile sağlıklı gönüllüler belirlenecektir. Daha sonra hastalardan ve gönüllülerden kan, tükürük ve diş eti oluğu sıvısı örnekleri toplanacaktır. Toplanan örnekler laboratuvar ortamına aktararak değerlendirilecektir.

Tükürük örnekleri için hastalar 5 dakika boyunca ağız tabanında tükürüklerini biriktirecek bir pet bardağa yarısına kadar tüküreceklerdir. Diş eti oluğu sıvısı toplanırken hastaların diş etleri pamuk rulo ve hava spreyi ile kurulanacak diş eti oluğuna minimum direnç hissedilen noktaya kadar kağıt stripler (örnek kağıtları) yerleştirilecek, 30 saniye boyunca tutulacak ve bu örnek kağıtlar 1,5 ml'lik plastik tüplere koyulacaktır. Daha sonra hastalardan 5 ml kan alınacak, 1,5 ml'lik tüplere aktararak tüm örneklerle birlikte -80 derecede dondurucuda saklanacaktır.

Mevcut çalışma rutin periodontal muayene ve ilgili örneklerin toplanması dışında herhangi bir işlemi içermemektedir.

c. Araştırmanın Amacı:

Bu çalışmanın amacı sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerde; IL- 38, IL-36γ, IL-17 ve MMP-9 sitokinlerinin (bağışıklık sistemini düzenleyen ve yöneten maddeler) varlığını kan, tükürük ve diş eti sıvısında tespit etmek, bu maddelerin periodontal hastalıktaki rolünü değerlendirmek ve birbirleriyle olan muhtemel ilişkisini araştırmaktır.

d. Araştırmanın Nedeni:

☒ Bilimsel araştırma

☐ Tez çalışması

e. Araştırmanın Öngörülen Süresi:



6

18 AY

f. Araştırmaya Katılması Beklenen Katılımcı/Gönüllü Sayısı:

90

g. Araştırmada İzlenecek Deneysel İşlemler:

Araştırmada herhangi bir deneysel metot ya da işlem kullanılmayacaktır.

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

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

Araştırma kan alma işlemi sırasında kol bölgesinde gerçekleşebilecek ödem (şişlik), ekimoz (kızarıklık), deformite (yara izi), hematoma (doku içine kanama), kanama, kanamaya bağlı taşikardi (kalp ritminin hızlanması), akut ağrı, (enjeksiyon esnasında olan ağrı), hipotansiyon (tansiyon düşüşü) gibi riskler taşımaktadır.

3. Gönüllüler/Katılımcılar İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:

Gönüllüler, hastalığa sebep olan faktörleri ve hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunacaklardır. Hastalığın nedenlerinin ve gelişimini etkileyen faktörlerin aydınlatılması yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

4. Araştırma Konusundaki Soruların Cevaplandırılması:

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

Adı- Soyadı: Hilal KORKMAZ

Telefon: 0505 444 4444

5. Zararların Karşılanması:

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

6. Araştırma Giderleri:

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

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

- Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
- Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.



6

- c. Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.
8. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle ya da araştırma prosedürüne bağlı olarak onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

9. Gizlilik:

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

10. Çalışmaya Katılma Onayı:

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

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün / katılımcının Adı- Soyadı:

Yaş ve Cinsiyeti:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için;

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı- Soyadı: Hilal KORKMAZ



İmzası:

Tarih:

Onam alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı- Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih:

Sayı : 70904504/
Konu :

09/12/2019

Doç.Dr.Üyesi Mükerrerem HATİPOĞLU
Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Öğretim Üyesi

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

[illegible]

Adres : Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 1. Kat ANTALYA
Tel : (312) 319 69 51
Faks : (312) 319 69 03
e-posta : akdeniz@akdeniz.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Hilal	Uyruğu	T.C.
Soyadı	KORKMAZ	Tel no	0532 333 1111
Doğum tarihi	13/06/1994	e-posta	hilal.korkmaz@akdeniz.edu.tr

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Isparta Anadolu Öğretmen Lisesi	2012
Lisans/Yüksek Lisans	Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2017
Doktora/Uzmanlık	Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD	2022

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Arş Gör.	Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD	2018-2022

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	Tıp Dil Sınavı	89

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)

Burslar-Ödüller:**Yayınlar ve Bildiriler:**

Korkmaz H., Sezen D., Hatipoğlu M., Gelişimsel Oluk Kaynaklı Lokalize Periodontal Defektin Rejeneratif Tedavisi, İZDO 2019, 8-10 Kasım 2019, Bayraklı, İzmir.

Korkmaz H., Hatipoğlu M., Üstün K., Ortodontik Tedavi Sonrası Miller II Çekilmenin Serbest Dişeti Greftiyle Tedavisi TDB 2019, Şişli, İstanbul.

Korkmaz H., Hatipoğlu M., Pistol AM., Protez Öncesi Periodontal Tedavi, İZDO 2021, 28-31 Ekim 2021, Bayraklı, İzmir

Korkmaz H., Hatipoğlu M., Periodontal Sağlıklı ve Periodontal Hastalıklı Bireylerde DOS, Tükürük ve Serum İnterlökin-38 Seviyelerinin Değerlendirilmesi, İZDO 2021, 28-31 Ekim 2021, Bayraklı, İzmir