

T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**TİP II DİYABETİ OLAN KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARIN DİŞETİ
DOKUSUNDA ve DİŞETİ OLUĞU SIVISINDAKİ NİTRİK OKSİT
SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ
Dt. Zeynep PAN

Ankara, 2009

T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**TİP II DİYABETİ OLAN KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARIN DİŞETİ
DOKUSUNDA ve DİŞETİ OLUĞU SIVISINDAKİ NİTRİK OKSİT
SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ
Dt. Zeynep PAN

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Şule BULUT

Proje No: D-KA07/03

Ankara, 2009

ÖZET

Periodontal hastalık, dişin etrafında biriken plak akümüasyonu ile dişetinin ve çevresindeki bağ dokunun bakterilere karşı olan inflamatuvar cevabını anlatan genel bir tanımlamadır. Periodontitis insanlarda en sık görülen, diş destekleyen dokuları etkileyen yıkıcı inflamatuvar bir hastalıktır. Periodontal hastalık, artmış dişeti inflamasyonu, derin periodontal cepler, klinik ataçman ve kemik kaybı ile karakterize olan ve diabetes mellitusun (DM) en sık karşılaşılan komplikasyonlarından biridir. Nitrik oksit (NO) çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahip bir serbest radikaldir. NO, nötrofil adezyonunu inhibe eder, tümör nekrotizan faktör alfa'nın (TNF- α) salımını uyarır. NO, nitrik oksit sentetaz (NOS) tarafından L-arginine'nin oksidatif deaminasyonu yoluyla üretilir. NO'nun indüklenebilir formu olan iNOS, bakteri ve lipopolisakkarit (LPS) gibi bakteri ürünlerine karşı inflamatuvar hücrelerden cevap olarak, hızlı ve devamlı olarak salgınır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, kronik periodontitisli tip II diyabetili hastaların dişeti dokusu ve dişeti oluşu sıvısında (DOS) NO miktarının incelenmesidir. DOS ve doku örnekleri, hem diyabeti hem de kronik periodontitisi olan hastalardan (Grup I, n=20), yalnız kronik periodontitisi olan hastalardan (Grup II, n=20), yalnız tip II diyabeti olan hastalardan (grup III, n=20) ve sağlıklı bireylerden (Grup IV, n=20) toplanmıştır. Her dişin altı yüzeyinden, tüm ağız periodontal parametreleri kaydedilmiştir. DOS'daki NO total miktarı ve NO konsantrasyonunu belirleyebilmek için Griess reaksiyonu kullanılmıştır. Dokulardaki inflamasyonun derecesi, iNOS pozitif boyanan hücre miktarı ve boyanmanın yoğunluğunu belirleyebilmek için immünohistokimyasal boyama yapılmıştır. iNOS pozitif boyanan hücre miktarı grup I, II ve III'te kontrol grubuna göre daha yüksektir ve grup I 'de grup II'ye oranla daha yüksek oranda iNOS pozitif boyanan hücre mevcuttur. DOS NO konsantrasyonu grup I, II ve III'te kontrol grubuna göre daha yüksektir. Ancak, DOS NO konsantrasyonu grup II'de grup I'e göre daha yüksektir. Bu çalışma ile görmekteyiz ki diabetes mellitus ve periodontal patogeneze süreci, NO üretimi üzerinde sinerjistik etki gösterebilmektedir. Araştırmamızın sonuçlarına dayanarak, NO'nın sağlıklı dokularda ve periodontal hastalık gelişimindeki rolünün daha iyi anlaşılması

için DOS NO düzeyinin, dişeti dokusunda NO düzeylerinin ve NO retimi için uyarı oluşturan etmenlerin beraber değerlendirildiği daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Nitrik oksit, diabetes mellitus, periodontitis, dişeti oluğu sıvısı, histopatoloji.

ABSTRACT

Periodontal disease is the general description applied to the inflammatory responses of the gingival and surrounding connective tissue to bacteria or plaque accumulations on the teeth. Periodontitis is one of the most common destructive human inflammatory diseases, affecting the tissues and bone supporting teeth. Periodontal diseases is often a chronic complication of diabetes mellitus (DM), with evidence of increased gingival inflammation, deeper periodontal pockets, and greater clinical attachment and bone loss. Nitric oxide (NO), a toxic free radical with multiple biological functions, including inhibition of neutrophil chemotaxis, adhesion to endothelium, and upregulation of tumor necrosis factor alpha (TNF- α), is generated by oxidative deamination of L-arginine by nitric oxide synthase (NOS). The inducible form of NOS (iNOS) is rapidly and durably expressed by inflammatory cells in response to bacteria or their products, such as lipopolysaccharide (LPS). Therefore, the aim of this study was to evaluate expression of NO in gingiva and gingival crevicular fluid (GCF) of type II DM patients presenting with chronic periodontitis. In diabetic patients, increased NO synthase in inflamed gingiva correlated with NO in GCF. GCF tissue samples were obtained from diabetic patients diagnosed with chronic periodontitis (Group I), chronic periodontitis without diabetes mellitus (Group II), diabetes mellitus without chronic periodontitis (Group III) and healthy adults (Group IV). All groups have 20 patients. Full mouth periodontal parameters were measured at six sites for each tooth. Griess was used to determine the levels of NO total amount and NO concentration in GCF. Immunohistochemical staining was used to determine the cells which were stained iNOS positively, inflammatory cells and staining concentration. Levels of iNOS positive stained cells to be higher in group I, II and III than the control group and to be higher in group I than group II. No significant differences were seen gingival inflammation between group I and II. Levels of GCF NO concentration to be higher in group I, II and III than the control group. Nevertheless, GCF NO concentration to be higher in group II than group I. This study has shown that diabetes mellitus and

periodontal pathogenesis process act synergistically to stimulate of NO. According the results, it seems reasonable and necessary to investigate GCF NO levels and tissue NO level with the factors that effect NO production to determine the exact role of NO in health and periodontal disease.

Key words: Nitric oxide, diabetes mellitus, periodontitis, gingival crevicular fluid, histopathology.

TEŞEKKÜR

Hem iyi hem de kötü günümde yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bana hocam olmanın ötesinde annem kadar yakın olan saygıdeğer hocam Prof.Dr. Şule BULUT'a,

Her zaman sakın kişiliğiyle bana yol gösteren sevgili hocam Doç.Dr. Emine ALAADDİNOĞLU'na,

Ne zaman yardımını istesem canla, başla uğraşan sevgili hocam Yrd.Doç.Dr.F.Bahar ODUNCUOĞLU'na,

Bize bir şeyler öğretebilmek için hiç durmadan çırpınan değerli hocam Doç.Dr. Beyazıt BAĞCI'ya,

Bu yola çıkmamda bana en büyük desteği vermiş olan, bana yol gösteren değerli hocam Yrd.Doç.Dr.Hilal TOYGAR'a,

Tezimin oluşumunda bilgi ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof.Dr. Nurdan ÖZMERİÇ KURTULUŞ'a,

Tezimin en önemli aşamalarında yardım ve desteğini esigemeyen hocam Dr.Dt. Esra GÜZELDEMİR'e

Tanıdığım günden beri bana olan desteğini ne olursa olsun bırakmayan, en kötü günümde bile yanımdan hiç ayrılmayan, sevgisi, şefkati ve duyarlılığıyla gücüme güç katan, tek varlığım, eşim A.Tolga PAN'a

Doğduğum günden beri tüm kararlarımda arkamda durmuş, benim için her fedakârlığa katlanarak zorluklara göğüs germiş, canım annem Nurten

EKMEKÇİ, biricik babam nejdet EKMEKÇİ ve tatlı kardeşlerim Mesut EKMEKÇİ, Müzda EKMEKÇİ, Zelal GÜVERCİN ve Timuçin GÜVERCİN'e,

Hiçbir zaman beni yalnız bırakmayarak her zaman desteğini hissettiğim dostum Dt.S.Deniz SOMAY'a,

Ne olursa olsun benden gülen yüzünü esirgemeyen, dürüst ve içten kişiliğiyle benim yanımdan hiç ayrılmayan dostum Dr.Dt. Efsun Er'e,

Bu yolda bana en büyük desteği veren ve bana evinin kapılarını bile içtenlikle açan çok sevdiğim arkadaşım Dt. Burcu ÇETİNKAYA'ya,

Doktoramın Adana'daki günlerinde bana tezimle ilgili her konuda yardım eden, her konuda içtenlikle yanımda olmuş olan unutamayacağım arkadaşlarım sevgili Dt. Ender AKBIYIK, Dt. Ersin SERİNSÖZ, Dt. Koray GÖZÜBÜYÜK, Dt. Ayça DEĞİŞMİŞ, Dt. Püren YÖRDEM, Dt. Emre CEYHAN'a

Diş Hekimliği Fakültesi'ne girdiğim ilk günden beri bana bu yolda öğrenmem gerekenleri 10 yıldır bıkmadan anlatan, doktora süresince yardımlarını ve desteklerini bırakmayan sevgili hocam Dr.Dt. Cem KIRCELLİ ve Dr.Dt.İşıl ÖZCAN'a

Sonsuz teşekkürlerimi iletirim...

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiii
RESİMLER	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kronik Periodontitis	3
2.1.1. Kronik Periodontitisin Epidemiyolojisi	4
2.1.2 Kronik Periodontitisin Etyolojisi	5
2.1.3. Kronik Periodontitisin Patofizyolojisi	6
2.2. Diabetes Mellitus	7
2.2.1. Klinikte Diyabetin Güncel Sınıflandırılması	10
2.2.2. Diabetes Mellitusun Komplikasyonları	15
2.3. Periodontitis ve Diabetes Mellitus İlişkisi	18
2.4. Dişeti Oluğu Sıvısı	22
2.5. Nitrik Oksit	25
2.5.1. Nitrik Oksitin Biyosentezi	26
2.6. Periodontal Hastalık ve Nitrik Oksit İlişkisi	30
2.7. Diabetes Mellitus ve Nitrik Oksit İlişkisi	31

3. GEREÇ ve YÖNTEM	33
3.1. Hasta Seçimi	33
3.2. Cep Sıvısı Örneklerinin Alınması	34
3.3. Periodontal Ölçümler	35
3.4. Doku Örneklerinin Alınması	36
3.4.1. Doku Takibi ve İmmünohistokimyasal Boyama	36
3.4.2 İNOS İmmünohistokimyasal Boyamasının Değerlendirmesi	38
3.5. DOS NO Miktarının Belirlenmesi	39
3.6. Kan Örneklerin Alınması	40
3.7. İstatistiksel Değerlendirmeler	40
4. BULGULAR	41
4.1 Bireylerde Cinsiyet Dağılımı	41
4.2. Klinik Parametreler	41
4.3 Açlık Glukoz ve HbA1c Değerlerinin Gruplararası Karşılaştırılması	45
4.4. Gruplararası NO Boyanma ve Enflamasyon Değerlerinin Karşılaştırılması	46
4.5 DOS Parametrelerinin Karşılaştırılması	52
4.6. İmmünohistokimyasal Bulgular ve DOS NO Değerleri Arasındaki Korelasyonlar	53
4.7. Klinik parametreler ile İmmünohistokimyasal Bulgular Arasındaki Korelasyonlar	54
4.8. Klinik Parametreler ile DOS Arasındaki Korelasyon	55
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR	63
7. KAYNAKLAR	65

KISALTMALAR

KP	Kronik Periodontitis
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
ROT	Reaktif Oksijen Türevleri
NO	Nitrik Oksit
LPS	Lipopolisakkarit
TNF	Tümör Nekrotizan Faktör
IL	İnterlökin
DM	Diabetes Mellitus
GLUT	Glukoz Taşıyıcıları
IDDM	İnsülin Bağımlı Diabetes Mellitus
NIDDM	İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
HbA1c	Glikohemoglobin
DOS	Dişeti Oluğu Sıvısı
LTB4	Lökotrien B4
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
PGE2	Prostaglandin E2
EDRF	Endotel Kaynaklı Relakse Edici Faktör
NOS	Nitrik Oksit Sentetaz
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentetaz
eNOS	endotelyal Nitrik Oksit Sentetaz
iNOS	indüklenabilir Nitrik Oksit Sentetaz
MMP	Matriksmetalloproteinaz
CD	Cep Derinliği
GI	Gingival İndeks
PI	Plak İndeks
KAS	Klinik Ataçman Seviyesi
SK	Sondalamada Kanama

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1 Nitrik oksitin kimyasal reaksiyonları	26
Şekil 2.2 nitrik oksitin insan vücudundaki etkileri	29
Şekil 4.1 Gruplararası cep derinliği değerleri	43
Şekil 4.2 Gruplararası gingival indeks parametreleri	43
Şekil 4.3 Gruplararası plak indeks parametreleri	43
Şekil 4.4 Gruplararası klinik ataçman kaybı değerleri	44
Şekil 4.5 Gruplararası dişeti çekilmesi değerleri	44
Şekil 4.6 Gruplararası sondalamada kanama değerleri	44
Şekil 4.7 Gruplararası HbA1c değerleri	45
Şekil 4.8 Gruplararası inflamasyon derecesi	47
Şekil 4.9 Gruplararası iNOS pozitif boyanan enflamatuar hücre oranı	47
Şekil 4.10 Gruplararası iNOS pozitif enflamatuar hücrelerde boyanma yoğunluğu	47
Şekil 4.11 Aktive olmuş mononükleer enflamatuar hücre elemanlarında kuvvetli stoplazmik iNOS boyanma oranı ve güçlü boyanma yoğunluğu (KP+DM, Grup I)	48
Şekil 4.12 Stromada düffüz enflamatuar hücre infiltrasyonu ve güçlü stoplazmik iNOS boyanması (KP+DM, Grup I)	48
Şekil 4.13 Hiperplazik epitelyum altında stromada diffüz enflamatuar hücre infiltrasyonu ve hafif stoplazmik iNOS boyanma (KP, Grup II)	49
Şekil 4.14 Hiperplazik epitelyum altında hafif derecede enflamatuar hücre infiltrasyonu, orta dereceli iNOS pozitif boyanma oranı ve güçlü iNOS boyanma yoğunluğu (DM, Grup III).	49
Şekil 4.15 Hiperplazik epitelyum altında hafif derecede enflamatuar hücre infiltrasyonu, hafif dereceli iNOS pozitif boyanma oranı ve zayıf iNOS boyanma yoğunluğu (DM, Grup III).	50
Şekil 4.16 Bağ dokuda az sayıda enflamatuar hücre infiltrasyonu izlenmekte ve hafif düzeyde iNOS boyanma görülmektedir (Kontrol grubu, Grup IV).	50

TABLolar

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. Diyabetin yol açtığı komplikasyonlar	17
Tablo 2.2. DOS içinde saptanabilen moleküller	25
Tablo 2.3. Nitrik oksit sentaz izoformlarının özetlenmesi	27
Tablo 3.1. Çalışma grupları	33
Tablo 4.1. Gruplararası cinsiyet dağılımlarının karşılaştırılması	41
Tablo 4.2. Gruplararası klinik parametrelerin karşılaştırılması	42
Tablo 4.3. Gruplararası açlık glukoz ve HbA1c değerlerinin karşılaştırılması	45
Tablo 4.4. Gruplararası immunohistokimyasal bulguların karşılaştırılması	46
Tablo 4.5. İmmunohistokimyasal bulguların grup içi ilişkisinin incelenmesi	51
Tablo 4.6. Gruplararası DOS NO değerlerinin karşılaştırılması	52
Tablo 4.7. İNOS boyanma değerleri ile DOS NO miktarlarının korelasyonu	53
Tablo 4.8. Klinik parametreler ile immunohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki	54
Tablo 4.9. Klinik parametreler ile DOS arasındaki korelasyon	55

RESİMLER

Resim	Sayfa
Resim 1. Çalışmamızda kullanılan Periotron 8000	35
Resim 2. Doku örneklerinin saklandığı kaplar	36

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Periodontitis, bakteriyel etkiler sonucunda dişetinde başlayan iltihabi olayın, diş destekleyen dokulara yayılarak alveoler kemikte yıkım ile sonuçlanan, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Bu durum, patojen bakteriler ile konak immün cevabı arasında oluşan kompleks etkileşim ile meydana gelen bir süreçtir. Gram-negatif bakterilerin dental plak içerisinde kolonizasyonu sonucunda, bakteriyel flora içerisindeki değişimler ve konak immün cevabı arasındaki etkileşim, gingival dokulardaki immünolojik aktivite ve sitokin salımında artışına sebep olur (1,2).

Günümüzde periodontal hastalığın etyolojisi ve prognozu hakkında yeterli bilgiler olmasına karşın periodontal yıkımın mekanizmasına yönelik bilgiler henüz tartışmalı ve sınırlı düzeydedir. Ancak, yıkım mekanizmasında konağın savunma yeteneğinin en önemli faktörlerden biri olduğu yönünde görüş birliği vardır. Bu nedenle, konağın savunma mekanizması, son yıllarda çeşitli araştırmalara konu edilmiş, bunu etkileyen sistemik ve lokal sebeplerin etkileri incelenmiştir (4).

Konağın savunma mekanizmasını olumsuz yönde etkilediği bilinen diabetes mellitus (DM) ile periodontal hastalık arasındaki ilişki, klinik ve immünolojik yönleri ile bazı çalışmalarda ele alınmıştır. Bilinmektedir ki, periodontal hastalık DM'nin komplikasyonlarından biridir. DM'nin, periodontal dokularda gingival inflamasyonun artışına, derin periodontal ceplerin meydana gelmesine, klinik ataçman ve kemik kaybının artmasında etkili olduğu bilinmektedir (150).

Hiperglisemi, oksidatif stersin artışına sebep olabilen ileri glikasyon son ürünlerinin (İGSÜ) üretimini uyarmakta, poliyol yolunu etiklemekte ve protein kinaz C üretimini uyarmaktadır. Bu reaksiyonlar sonucunda polimorfonükleer lökositler (PMNL) ortama yüksek miktarda reaktif oksijen türevleri (ROT) salmaktadırlar. Dolayısıyla periodontal hastalıklarda doku yıkımını tetikleyen bir

başka faktörde dişeti dokusu ve dişeti oluşu sıvısında ROT'un seviyesinin artışı olabilmektedir (22,120).

Bu güne kadar yapılan çalışmalarda nitrik oksitin (NO) periodontal hastalık ve sağlıktaki rolü net olarak açıklanamamıştır. NO, direkt veya indirekt yoldan bazı proinflatuar sitokinlerin üretimini etkiliyerek hem periodontitiste hem de alveoler kemik kaybının patogenezinde rol almaktadır. Periodontal lezyonlarda sitokin ve LPS indüksiyonunu takiben fibroblastlar, makrofajlar, lenfositler ve PMNL'ler tarafından uzun süreli olarak yüksek miktarlarda NO üretimi gerçekleştirebilmektedir. NO'in inflame gingival dokularda artış gösterdiği bilinmektedir. Dokularda artan NO konsantrasyonu bakterilere karşı defans oluşturmanın yanı sıra periodontal doku harabiyetine sebep olabilen bir moleküldür (117,121,122,123,148).

NO'in periodontal hastalık gelişiminde üstlendiği rol düşünüldüğünde, DM'li bireylerde izlenen periodontal hastalıklarda da etkin rolü olabileceği düşünülmektedir. Yapılan literatür değerlendirmesinde, NO düzeyinin tip II DM'li ve kronik periodontitisli bireylerde dişeti oluşu sıvısında ve dişeti dokusunda değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda;

1. Tip II DM'li ve kronik periodontitisli bireylerde, sistemik açıdan sağlıklı ve kronik periodontitisli bireylerde, periodontal açıdan sağlıklı ve tip II DM'li bireylerde dişeti oluşu sıvısında NO düzeyleri belirlenerek, bu verilerin kontrol grubu ile karşılaştırılması,
2. Aynı hasta gruplarından dişeti oluşu sıvıları ile eş zamanlı olarak elde edilen dişeti dokusu örneklerinde iNOS düzeylerinin ve dokudaki enflamasyonun değerlendirilmesi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması,
3. Elde edilen bu verilerin gruplararası karşılaştırılması,
4. Elde edilen verilerin birbirleri ile olan olası ilişkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Periodonsiyum; dişeti, alveol kemiği, periodontal ligament ve sementten oluşan ve dişi destekleyen yapı bütünüdür (1). Dişetinde gelişen enfeksiyonun, dişeti bağ dokusu, periodontal ligament ve alveoler kemiğe ilerlemesi ile dişin destek dokularının yıkımına ve diş kaybına neden olan hastalığa; periodontitis adı verilir (2). Yapılan araştırmalarda her dört kişiden üçünde periodontal hastalık varlığı tespit edilmiş, yine dört kişiden ikisinde periodontitis geliştiği gözlenmiştir (1, 2, 3, 6).

Periodontal hastalıklar için günümüzde kullanılan sınıflandırma Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin düzenlediği "International Workshop for the Classification of Periodontal Diseases"da oluşturulan sınıflamadır. Bu sınıflandırma ile periodontitis tipleri, periodontitisin üç genel klinik formunu tanımlayacak şekilde sınıflandırılmıştır. Bunlar: Kronik Periodontitis, Agresif Periodontitis ve Sistemik Hastalıkların neden olduğu Periodontitis olmak üzere üç ana tipten oluşmaktadır (4).

2.1. Kronik Periodontitis

Kronik periodontitis (KP), gingivitisle başlayan ve tedavi edilmediği takdirde ataçman kaybı ve alveol kemik yıkımı ile kendini gösteren kronik iltihabik bir hastalıktır. KP klinik olarak incelendiğinde; dişetinde renk değişikliği, pürüklülüğün kaybolması, keskin olmayan yuvarlak dişeti kenarı ile beraber kendiliğinden başlayan veya kolayca başlatılabilen dişeti kanaması görülür. Çeşitli derinliklerde periodontal ceplere rastlanır ve genellikle yatay kemik kayıpları gözlenir. İleri kemik kaybının olduğu vakalarda sıklıkla sallanan dişlere rastlanır. KP vakalarında ağrı nadiren görülen bir belirtidir. Hastalığın ağrısız ve kronik bir seyir izlemesi, hastaların tedavi ihtiyacı duymalarına büyük bir engel teşkil eder. Açığa çıkmış kök yüzeylerinde çürük gözlenebilir. Ayrıca, hasta

sıcağa ve soğuğa karşı hassas olabilir. Dişetinde ödem ve kaşıntı hissi olabilir (4, 5).

KP, etkilenen diş sayısına bağlı olarak lokalize ve generalize olmak üzere iki grupta tanımlanır. Etkilenmiş dişlerin sayısı tüm dişlere oranla <30% ise lokalize; >30% ise generalize kronik periodontitis olarak adlandırılır (4,5). Hastalık genellikle generalize seyirlidir. Lokalize ve generalize tipi klinik ataçman kaybının miktarına göre üç alt gruba ayrılır. Klinik ataçman kaybı 1-3 mm arasında ise hafif şiddetli, 3-5 mm arasında ise orta şiddetli, 5 mm veya daha fazla ise şiddetli olarak isimlendirilir. KP'nin hafif şiddetli tipi büyük azılar bölgesinde I.derece furkasyon girişi ile karakterizedir (4,5). Subgingival ve supragingival bölgelerde plak birikimi ve diştaşı mevcuttur. Sondalamada kanama ve radyografik olarak az miktarda kemik kaybı gözlenir. Orta şiddetli tipinde, azdan orta dereceye kadar değişen hareketli dişlere rastlanılır. Radyografik olarak kemik kaybı genellikle yatay yöndedir ve ataçman kaybı %40 civarındadır. Furkasyon bölgesindeki açılma artmış ve radyografide radyolusent bir görüntü vardır. Sondalamada kanama mevcuttur. Şiddetli tipinde ise ataçman kaybı 5 mm ve üzerindedir. Belirgin furkasyon defekti ve ilerlemiş diş hareketine sıklıkla rastlanılır. Radyografik incelemede kemik kayıpları %40'ın üzerindedir ve yatay yönde kemik kayıplarına ilaveten dikey yönde kemik kayıpları da gözlenebilir (4, 5).

2.1.1. Kronik Periodontitisin Epidemiyolojisi

Periodontitis insanlarda görülen en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Yapılan araştırmalarda her dört kişiden üçünde periodontal hastalık varlığı tespit edilmiştir (1, 2, 3, 6). KP'in görülme sıklığı çeşitli toplumlarda farklı oranlardadır (1, 4, 7).

Periodontal hastalık ve periodontal doku kaybının kadınlara oranla erkeklerde daha fazla olduğu rapor edilmiştir (4, 5, 6). Ayrıca ırksal farklılıkların da periodontitisin oluşumunda etkili olduğu ve periodontitisin görülme sıklığının siyahlarda beyazlara oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir. Aynı epidemiyolojik

Çalışmada, periodontal hastalığın prevalansının, etkilediği bölgenin miktarının ve periodontal ataıman kaybının şiddetinin yaşla doğru orantılı olarak arttığını açıkça göstermiştir (4, 5, 6). Periodontitis yaş ile ilişkili olan ancak yaş kaynaklı olmayan bir hastalıktır. Başka bir deyişle bireylerin yaşı hastalığın prevalansındaki artışın sebebi değildir. Fakat kronik plak birikimi sebebiyle zaman geçtikçe periodontal dokular değişime uğramaktadır (5).

2.1.2 Kronik Periodontitisin Etiyolojisi

Periodontitisin oluşumunda birçok lokal ve çevresel faktörün rol oynamasına karşın, esas etiyolojik faktör mikrobiyal dental plak ve ürünleridir (3, 5, 9, 10). Lokal çevresel faktörlere; diş anatomisi, ağız solunumu, okluzal travma, yumuşak doku ilişkileri, gıda sıkışması, restoratif ve periodontal etkenler örnek verilebilir. Sistemik faktörlere ise diyabet, yaşlanma, genetik faktörler, stres, beslenme, hormonal durum, fagositik hücrelerdeki efektler, Down Sendromu, Papillon LeFevre sendromu örnek verilebilir (11).

Periodontitiste supragingival ve subgingival alanlardaki mikrobiyal dental plağın kompozisyonu farklılık gösterir. Lezyon ilerledikçe gram negatif anaerob mikroorganizmalarda artış olur. Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* ve spiroketler periodontitis ile doğrudan ilişkili bulunmuş ve bu yüzden ana periodontopatojenler olarak tanımlanmışlardır (3).

KP'in ana etkeninin mikrobiyal dental plak olduğu bilinmektedir (5,12). Restorasyonlar, dişin anatomik yapısı, çürük ve kök rezorbsiyonları gibi plağın birikmesini kolaylaştıran veya etkisini artıran lokal faktörlerinde periodontal hastalık için ikincil önem arz ettiği vurgulanmıştır. Diyabet (13,14), Osteoporoz (15) ve hamilelik gibi hormonal değişiklikler (16), genetik faktörler (17) ve AIDS (18) gibi hastalıklarda periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde etkili olan sistemik faktörlerdir. Bununla beraber sigara kullanımı (19), beslenme

alışkanlığı (20), stres (21), ileri yaş (22) gibi etkenlerin periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde risk faktörü olarak rol oynadığı bilinmektedir.

2.1.3. Kronik Periodontitisin Patofizyolojisi

KP'in ilerleme hızı aynı bireyde dönemsel ve bölgesel değişkenlik gösterebilir. Hastalık yavaş, orta şiddetli veya hızlı bir ilerleme gösterebilir. Hastalığın ilerleme hızı ağzın farklı bölgelerinde farklı oranlarda görülebilir. Bazı bölgelerde uzun süre pasif kalırken bazı bölgelerde hızlı bir aktivite gösterebilir (23). Periodontal hastalığın aktif olarak tespit edildiği bölgelerde, plak birikiminin fazla olduğu ve biriken plağın uzaklaştırılmasının güç olduğu bildirilmiştir (4). Konak savunma faktörlerinin etkinliği de bölgedeki hastalığın şiddetinde önemli rol oynar (4,5). Normal şartlarda dişeti dokusundaki mikroorganizmalar ile konak savunma mekanizması arasında her zaman bir denge mevcuttur. Eğer bu denge bozulacak olursa, hastalık şiddetlenerek kemik yıkımı meydana gelir; sonuçta diş kayıpları görülebilir (4,5).

Periodontal hastalıklarda doku yıkımı birbiriyle ilişkili çeşitli mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşir. Doğrudan bakteri ve bakteri ürünlerinin meydana getirdiği direkt doku yıkımlarının yanı sıra, konak dokuda bakteriyel faktörlere karşı oluşan cevabın meydana getirdiği indirekt yıkım da mevcuttur (24). Direkt mekanizma ile doku yıkımına neden olan bakteriyel plağın kompozisyonunda periodontal patojenlerin oranının arttığı bildirilmiştir (22). Periodontal hastalıklarda yer alan doku yıkım mekanizmaları henüz tam olarak açıklanamamış olsa da, gingivitis ve periodontitis varlığında enflamatuar reaksiyonların rol oynadığı bilinmektedir. Bakteriyel ürünler doğrudan ya da dolaylı olarak enflamatuar cevaba yol açarak dokularda hasar oluşturabilirler. Plakta bulunan antijenler, PMNL ve makrofaj yoluyla inflamasyondaki bir dizi olayı başlatabilirler. Nötrofiller konak savunma sisteminin ilk basamağını oluştururlar. Daha sonraki aşamalarda, inflamasyonlu dokuda toplanır ve çeşitli proteolitik enzimleri ortama salarlar. Bu enzimler proenflamatuar etkinliğin yanı sıra kollojen, kemik ve diğer dokuların yıkımına da sebep olabilirler (3, 9, 10).

Geleneksel olarak, periodontitisin yerel bir enfeksiyon olduğu ve doku yıkımının bölgesel olarak kaldığı düşünölmektedir. Ancak, son çalışmalar, periodontitisin sistemik sağlık üzerine de pek çok etkisi olduğunu ortaya çıkarmıştır (9, 10). Mikrobiyal dental plak florasında bulunan belirli mikroorganizmalar, doku yıkıcı immün cevabın oluşmasına neden olan, lipopolisakkarit (LPS) yapıdaki endotoksinleri ortama bırakmaktadır (9).

Genel olarak periodontitiste gözlenen doku yıkımını endotoksinlerin başlattığı; bakteriyel flora ve metabolitlere karşı lokal dokulardan ve immün hücrelerden salınan proenflamatuar sitokinler nedeniyle olduğu kabul edilmektedir. Periodontitisin immünopatolojisine çok sayıda proenflamatuar sitokin katılmasına rağmen, periodontal doku yıkımına özellikle tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve interlökin-1 β (IL-1 β)'nın neden olduğuna ilişkin kanıtlar mevcuttur. Bu sitokinler aktif hastalık ve doku yıkımı sırasında periodontal dokularda artmaktadır (25, 26). Periodontal tedaviden sonra, doku sağlıklı duruma geri döndüğünde de önemli oranda azalmaktadır (9). Doku yıkıcı etkileri bakımından, IL-1 β 'nın PMNL degranölasyonunu kolaylaştırdığı, prostogladinler gibi enflamatuar mediatörlerin sentezini arttırdığı, kollojen sentezini inhibe ederek, T ve B lenfositleri aktive ettiği düşünölmektedir (9, 25).

PMNL, periodontal hastalıklar gibi iltihabi hastalıklar süresince patojenik bakterilere karşı konak cevabının ana hücreleri olduğu birçok kez rapor edilmiştir (27, 28). PMNL'den reaktif oksijen türevleri (ROT) gibi birçok antimikrobiyal faktörün üretildiği gösterilmiştir (29). ROT, hücrede bazı düzenleyici roller üstlendiği gibi aşırı üretimi DNA hasarı gibi zararlı etkilere sebep olmaktadır (27).

2.2. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), insülinin tamamen veya kısmi eksikliğine bağlı olarak gelişen ve yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile karakterize bir hastalıktır. İnsülin eksikliğinin yanı sıra insüline karşı gelişen direnç, DM gelişiminde rol

oynamakta, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasını etkilemekte (30) ve böylelikle doku ve organlarda biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler meydana gelmektedir (31). Etiyolojisinde, genetik sebepler, immünolojik faktörler, çevresel faktörler rol almaktadır.

Amerika Birleşik Devletleri'nde, 1980-1996 yılları arasında diğer sistemik hastalıkların yaşa göre mortalite hızında düşme eğilimi gözlenirken, diyabete bağlı ölümler %30 oranında artmış ve mortalitede yedinci sırada yer almaktadır (32). Bu hastalığın tanısı, tedavisi ve komplikasyonlarının önlenmesi için sarf edilen bütün çabalara ve harcamalara rağmen, mortalite hızının düştüğünü gösterecek hiçbir veri bulunmamaktadır (33).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), diyabeti bütün ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunu olarak ilan etmiştir ve 2025 yılına kadar dünyada bugünün iki katı diyabet hastası olacağını (yaklaşık 300 milyon diyabet hastası) öngörmektedir. 2004 yılında yayınlanan verilere göre, dünya genelinde 2000 yılı itibarıyla 171 milyon olan diyabet hastası sayısı, 2003 yılında 371 milyona ulaşmıştır (34,35). En sık görülen kronik hastalıklardan biri olan Tip 2 diyabetin artışı, fiziksel aktivitede azalma ve obezitenin artışı ile ilişkilidir. WHO, Uluslararası Diyabet Federasyonu ve tüm ülkelerin diyabet dernekleri, toplumu diyabet yönünde bilinçlendirme, hastalığın belirtileri ve komplikasyonlarının erken tanısı ve tedavi uygulamalarında birlikteliği sağlama kararını "St. Vincent" Deklarasyonu (Ekim 1989) ile almışlardır (36).

DM'nin gelişiminde doğrudan ya da dolaylı olarak pankreas dışındaki faktörlerin etkisi de bulunmaktadır. Nörolojik bozukluklar, sağlıksız beslenme, hiperlipidemi, kalıtsal faktörler, enfeksiyon, karaciğer, böbrek üstü bezleri, tiroit ve hipofizdeki patolojik değişimler DM'nin nedenleri arasında yer alır. Ayrıca, kortikosteroidlerin doğal olarak yüksek düzeyde bulunması ya da dışarıdan uzun süre kortikosteroid verilmesi şeker hastalığını başlatabilir. Akut şeker hastalığına çok seyrek rastlanılır. Uygun bir tedavi uygulanmadığında birkaç hafta içerisinde ölümle sonuçlanabilir (37).

DM'nin görülme sıklığı, ülkeden ülkeye büyük farklılıklar gösterir. Yapılan çalışmalarda iyi beslenen toplumlarda bu hastalığa daha sık rastlandığı görülmüştür. Yaş ilerledikçe hastalık oranı daha da yükselmektedir. Fakat bu tipik özellikler, çevre şartlarına göre değişimler gösterebilmesine karşın, kadınlarda görülme sıklığı, erkeklerden daha fazladır (38).

Başlıca hipoglisemik hormon insülinidir. İnsülinin etkisini antagonize eden ve glikojenik etkiye sahip olan diğer hormonlar ise glukagon, büyüme hormonu, kortizol ve adrenalin karşı düzenleyici hormonlardır. İnsülin, 51 amino asitli, üç adet disülfid köprüsü ile bağlanmış iki zincirden oluşan peptit yapıda bir hormondur. Aktif hormon A zinciri 21 ve B zinciri 30 amino asitten oluşur. Başlangıçta bir ön-prohormon olarak; daha sonra bir peptitin atılması ile proinsüline dönüştürülerek pankreasın langerhans adacıklarındaki β hücrelerinde sentez edilir (39). Normal konsantrasyondaki insülinin normalden daha az biyolojik yanıt oluşturmaması, başka bir deyişle glukoz kullanımını uyarıcı etkisinin azalmasına insülin direnci denilmektedir.

İnsülin direnci,

- Metabolik sendrom
- Obezite
- Hamilelik
- Enfeksiyon veya ciddi hastalıklarda
- Stres durumlarında
- Steroid kullanımı sırasında görülebilmektedir.

İnsülin direnci, Tip 2 DM ve kardiyovasküler hastalıkların önemli bir klinik göstergesi sayılmaktadır. Normalde insülin, karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşıyarak, glikojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. İnsülin direncinde, insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik

glukoz baskılanması bozulur. Kas ve yağ dokusunda da insülin aracılığı ile olan glukoz kullanımı azalır. Bu durumda oluşan insülin direncini karşılayacak ve dolayısıyla normal biyolojik yanıtı sağlayacak kadar insülin salgısı artışı ile metabolik durum kompanse edilir. Böylelikle hipergliseminin önlenmesi için β hücreleri sürekli olarak insülin salgısını arttırmaya yönelik bir çaba içerisine girer. Sonuçta, normoglisemi sağlanırken insülin düzeylerinde de normallere göre 1,5-2 kat yüksek bir seviye oluşur (40). Bu hiperinsülinemik kompensasyon sürecindeki β hücrelerinde başlangıçta herhangi bir bozukluk yoktur. Fakat β hücresinde fonksiyon kaybı başladığında insülin salgısı da giderek azalmakta ve diyabet ortaya çıkmaktadır. İnsülin direnci, tip 2 diyabet ve obezitede sıklıkla görülmekle birlikte, obez olmayan ve oral glukoz tolerans testi (OGTT) normal olan sağlıklı bireylerin %25'inde ve esansiyel hipertansif hastalarının %25'inde de saptanmıştır (41).

İnsülin direncince neden olan bozukluklar şöyle sıralanabilir:

- **Reseptör öncesi:** anormal insülin sentezi ya da insülin antikorlarının oluşması,
- **Reseptör:** reseptör sayısı ya da afinitesinde azalma,
- **Glukoz taşıyıcıları (GLUT):** GLUT eksikliği ya da işlevlerinin azalması,
- **Reseptör sonrası:** sinyalleme ve fosforilasyon bozuklukları,
- **Sistemik:** adipozitlerde esterleşmemiş yağ asitleri ve TNF-alfa (42) üretiminde artış olarak özetlenebilir (43).

2.2.1. Klinikte Diyabetin Güncel Sınıflandırılması

I. Tip 1 Diyabet, İnsüline Bağımlı DM (İDDM) ya da juvenil başlangıçlı diyabet

A-İmmünolojik

B-İdiopatik

II. Tip 2 Diyabet, İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus (NIDDM) ya da erişkin başlangıçlı diyabet

III. Diğer spesifik tipler

- A- β hücre fonksiyonunda genetik defekt
 - B-İnsülin etkisinde genetik defekt
 - C-Ekzokrin pankreas hastalıkları (pankreatik travma, pankreatektomi vb.)
 - D-Endokrinopatiler (akromegali, Cushing sendromu, hipertroidi, feokromasitoma, glukagonoma)
 - E-İlaç ya da kimyasallara bağlı (glukokortikoidler, tiazidler, troid hormon, fenitoin vb.)
 - F-İnfeksiyonlar (konjenital rubella, sitomegalovirus)
 - G-İmmün diyabetin bilinmeyen formları (stiff-man sendromu vb.)
 - H-Diğer genetik sendromlar (Down, Klinefelter, Turner sendromu vb.)
- IV. Gestasyonel DM
- V. Risk Kategorileri:
- Bozulmuş açlık glukozu
 - Bozulmuş glukoz toleransı (52).

2.2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Bu tip DM'da, genç tipi DM, birincil DM ve ketoza yakın DM gibi adlarda verilir. Tip 1 diyabette pankreastaki insülin üreten β hücrelerinin yıkımı söz konusudur. Hastalığın etyolojisi tam olarak ortaya konulmamış olmakla birlikte, patofizyolojisi otoimmün veya viral yolla ortaya çıkan yıkımları sergilemektedir (44, 45, 46). Bu tip DM'de Langerhans adacıklarındaki β hücreleri yıkıma uğradığından insülin salınımı azalır ya da durur. İnsülinin yetersiz olmasının başlıca nedeni β hücrelerindeki yıkımdır. Bu sebeple kanda insülin düzeyi düşer ve insüline gereksinim duyulur. Bundan dolayı bu tip DM'a, insüline bağlı DM adı verilir. Hastalığın ilk evrelerinde β hücrelerine karşı antikorlar gelişir. Pankreasın insülin yedeği çok azdır, hiç yoktur veya kanda insülin düzeyi çok azalmıştır. Vücutta yağların yıkımı ile birlikte protein yıkımında arttığından bu hastalar genellikle fazla yedikleri halde zayıftırlar (37).

Tip 1 DM, insülin salgılayan pankreas β hücrelerinin hücre sel aracılı otoimmün harabiyeti sonucu oluşur. Adacık hücreleri, mononükleer hücrelerce

oluşturulan immün saldırıya maruz kalırlar ki; bu saldırının β hücrelerindeki patolojik görünümü isülitis olarak adlandırılmaktadır. Tip 1 diyabete öncülük eden otoimmün olay klinik belirtilerin ortaya çıkmasından yıllar önce başlar. Semptomatik tip 1 DM'nin ortaya çıkması için β hücrelerinin hacminde %80-90 kadar azalma olması gereklidir. Tip 1 DM hastalarında hastalık genellikle ani başlar. Aşırı susama ve sık sık idrara çıkma, kilo kaybı, bulantı, kusma, yorgunluk ve özellikle çocuklarda karın ağrısı diyabetik ketoasidozun ilk belirtileri arasındadır. Solunum sayısı ve derinliği giderek artma eğilimi gösterir ve hastanın nefesi aseton kokmaya başlar. Diyabetik ketoasidoz, tedavi edilmediği takdirde birkaç saat içinde koma hali gelişebilir ve ölümle sonuçlanabilir (38,41). İmmün ve idyopatik sebepler hastalığın patolojisinde yer alırlar. Tip 1 diyabetin immün formu ise en sık rastlanan şeklidir ve teşhis konulan hastaların çoğu 30 yaşın altındaki vakalardır (36).

2.2.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

Bu tip DM'a ergin tip DM, ikincil DM, insüline bağımlı olmayan DM da denir. Tip 2 DM en sık karşılaşılan metabolik bozukluklardan biridir ve gelişmiş ülkelerdeki birçok popülasyonda % 5-10 oranında görülür (47). Genellikle orta yaşın üstündeki bireylerde görülmeye başlar. Fakat son dönemlerde genç erişkinlerde ve çocukluk çağında da görülmeye başlamıştır (48). Tip 1 DM'den daha sık görülür ve ailevi eğilim daha fazladır. Patogenezi hakkında daha az şey bilinmektedir. Genetik faktörler Tip 1 diyabetten daha büyük önem taşımaktadır. Tip 2 diyabete karakterize olan iki metabolik defekt; insülinin beta hücrelerinden düzensiz salımı ve insülin direncidir. İnsülin direnci, başlangıçta hiperinsülinemiye tetiklerken, daha sonraları beta hücresinin insülin salgılama yapılarındaki bozukluklar kendini gösterebilir. Hastalıkta hem beta hücre defekti hem de insülin direnci vardır.

Genellikle orta yaş veya sonrasında görülmekte olan Tip 2 diyabet için en önemli çevresel faktör obezitedir (10,49). Tip 2 diyabette, insülin molekülünde ortaya çıkan hasarlar veya insülin için farklılaşmış hücre reseptörleri sonucunda

hastalık ortaya çıkmaktadır ve burada eksiklik değil, bozulmuş insülin fonksiyonu (insülin direnci) söz konusudur. Ancak, ileride insülin üretimi azalabileceğinden insülin desteğine ihtiyaç duyulabilir. Obez kimselerin hücre yüzeylerindeki reseptör miktarları ve hassasiyetleri azalmıştır. Bu nedenle kanlarında yeterli insülin bulunmasına karşın insülin etkisi görülmez. Hiperglisemi, pankreası devamlı uyarır ve insülin salgılatmaya çalışır. Buna bağlı olarak; pankreas yorulur ve diyabet meydana gelir (50). Glukoz intoleransı tipik olarak diyet ve vücut ağırlığının kontrolü ile düzeltilebilir. Ayrıca antidiyabetik ajan kullanımına da oldukça sık başvurulmaktadır (45,46). Tip 2 DM hastaları tüm diyabet hastalarının yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır ve dünyada Tip 2 DM'li hasta sayısı her 15 yılda bir %6 oranında artmaktadır (51). Bu durum hem prevalansı arttırmakta hem de diyabet geni taşıyan daha çok çocuğun doğmasına imkân vermektedir. Ayrıca yaşam şartları düzelmekte ve diyabetin ortaya çıkışını hazırlayan önemli etkenlerden biri olan şişmanlık artmaktadır (47).

Tip 2 diyabetli bireylerde iki ana tanımlanabilir patolojik defekt vardır. Bunlardan bir tanesi, insülinin periferik dokuları etkileme yeteneğindeki azalmadır. Bu bozukluk insülin direnci olarak isimlendirilir ve bazı araştırmacılar tarafından birincil patolojik olay olarak düşünülmektedir. Diğer, beta hücre fonksiyonundaki bozukluktur. Bu durum, insülin direncini kompanse etmek için yeterli insülin üretmede pankreasın yetersizliğidir. Böylece, hastalıkta önce insülinin göreceli yetersizliği oluşur ve sonra da mutlak insülin eksikliği gelişir. İnsülin direnci ve insülin sekresyonundaki temel moleküler defektler çevresel ve genetik faktörlerin kombinasyonundan kaynaklanmaktadır. Tip 2 diyabetik hastaların büyük çoğunluğunda görülen insülin rezistansı ile birlikte, insülin fazlalığı veya eksikliği hastaların her birinde farklı derece ve şiddetlerde olabilmektedir (47, 50).

β -hücreleri, uyarı geldiğinde, insülin salgıladıkları halde;

- Glukoz taşıyıcılarındaki bir bozukluk

- İnsülin reseptörlerinin sayısının azalması
- İnsülin reseptör tirozin kinaz enzim eksikliğinin değişmesi
- Kandaki lipit seviyelerin artması
- Hücre içindeki serbest yağ asitlerinin oksidasyonun artması (lipotoksisite)
- Glukotoksisite

Gibi nedenlerden dolayı insülinin etkinliğinin azaldığı görülmüştür (52).

Tip 2 DM'un nedenlerinden biri progesterondur. Seksüel siklusların hormonal denetimi için kullanılan progesteron, üç türlü etki ile insülin salımını azaltır. Progesteron ilk olarak büyüme hormonu salımını artırır. İkinci olarak hipotalamustaki reseptör-hormon bağlantısı ile vücuda besin ve su alımını artırır, böylece karbonhidrat metabolizması yükselir. Üçüncü olarak, insülin etkinliği için zıt etki göstererek çevresel insülin direncine neden olur. İştahsızlık, güçsüzlük, hızlı solunum, kusma, sinirsel işlevlerdeki şiddetli çökkünlük (depresyon) sonucunda gözlemlenir (37).

Kontrol altına alınmamış ve yüksek seyreden kan glukozu uzun vadede çeşitli komplikasyonların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Lipit, protein ve karbonhidrat metabolizma bozuklukları ile seyreden kompleks metabolik bir hastalık olan tip 2 Diabetes mellitus; kalp-damar hastalıkları, böbrek yetmezliği ile sonuçlanan nefropati, sinir sistemi hastalığı olan nöropati, körlüğe kadar götüren retinopati ve ayak ülserleri gibi uzun vade komplikasyonları sonucu felç, gangren veya koroner hastalıkların meydana gelmesi riskini arttırmaktadır (30).

DM'nin takibi ve tanısı için tarama testleri arasına alınan birçok biyokimyasal ya da immünolojik yöntemler tanımlanmıştır. Bunların en önemlileri glukoz ve hemoglobinin nonenzimatik glikolizasyonu ile oluşan glikohemoglobinler, yani HgAl ve majör fraksiyonu olan HbA1c'dir (45, 46). HbA1c, geçen 3 aylık glisemik durumu, non-diyabetik kişilerdeki miyokardiyal enfarktüs riski ve arterlerin kalınlıkları hakkında da bilgi vermektedir (53). Bu test, kan glukozu hafif yüksek olan erişkinlerde diabetes mellitus tanısının

doğrulanması için çok yararlıdır. Glukozun kanda yükselmesi diyabetin en önemli göstergesidir (45, 46).

2.2.2. Diabetes Mellitusun Komplikasyonları

DM, artmış kardiyovasküler komplikasyon riski ile tanımlanan, kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığıdır. Temel komplikasyonları retinopati, nefropati, nöropati, makrovasküler hastalık ve bozulmuş yara iyileşmesidir. Bu semptomlar Tip 1 DM'de Tip 2'ye göre daha yaygın görülür. Ayrıca bu semptomlara yorgunluk, sinirlilik, kaşıntı, soğukluk ve kusma hissi eşlik edebilir (54). Tüm bu bulguların erken teşhis ve etkin tedavi ile geri döndürülmesi mümkündür. Diyabetik komplikasyonlar akut ve kronik dönemlerde, zamana bağlı olarak ortaya çıkmakta ve diyabette ölümle sonuçlanan olgulara neden olmaktadır. Diyabette mortalite ve morbidite artışının asıl nedeni kardiyovasküler hastalıklardır (55).

Hiperglisemi dört ana mekanizma ile diyabetik komplikasyonlara yol açmaktadır. Bu mekanizmalar, poliol yolunun aktivasyonu, hücre içinde ileri glikasyon son ürününün (İGSÜ) oluşumunun artması, protein kinaz C aktivasyonu ve heksozamin yolunun aktivasyonudur. Diyabetin ileri dönemlerinde ortaya çıkan komplikasyonlarının patogenezi açıklamaya yönelik hücresel mekanizmalar, komplikasyonlar farklı olsa da ortaktır. Mitokondride oluşan ROT'nin mitokondriyal DNA da hasara neden olduğu gösterilmiştir (22, 120). Mitokondriyal elektron transport sistem komponentlerinden bazılarını kodlayan mitokondriyal DNA'nın hasar görmesi bu komponentlerin yapılarının ve fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Defektif komponentlerin oluşması normoglisemide bile süperoksit oluşumu artırır. Hiperglisemik hafızanın, mitokondriyal DNA'daki oksidatif hasar ile açıklanabileceği öne sürülmektedir (56).

Yüksek kan glukozu ve kan dolaşımının yetersizliği zaman içinde kalbe, beyne, gözlere, bacaklara, böbreklere ve sinirlere zarar vererek iskemik kalp

hastalıklarına, kalp yetmezliğine, sinirlerin harabiyetine (nöropati) ve deri lezyonlarına sebep olur. Ateroskleroz diyabetli hastalarda 2-6 kat daha fazla sıklıkta görülmekte ve daha erken yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Felç ve kalp krizi de diyabetli hastalarda daha sık gözlenmektedir. Kan dolaşımının azalması sonucu deride enfeksiyonlar ve ülserler oluşur, yaralar daha geç iyileşir. Göz damarlarının DM'a bağlı olarak hasar görmesi sonucu görme kaybı (diyabetik retinopati) ve göz bozuklukları oluşabilir. DM'lu kişilerde böbrek işlevleri bozulabilir, böbrek yetmezliği oluşup diyaliz veya böbrek nakli gibi durumlara ihtiyaç olabilir. DM'un sinirlere verdiği zarar birkaç şekilde ortaya çıkabilir. Bacaklarda birden veya yavaş başlayan güçsüzlük, his kaybı, karıncalanma, ellerde ve ayaklarda ağrı görülebilir. DM'un diğer organ komplikasyonlarının yanı sıra akciğerler üzerinde de olumsuz etkileri mevcuttur. DM'li hastalarda en sık görülen pulmoner komplikasyon enfeksiyonlardır. Ayrıca solunum fonksiyonlarında anormallikler ve uyku-apne sendromu da görülebilir (36, 57).

Ölümlerin ve bağlı diğer hastalıkların çoğu, DM'un kronik komplikasyonları olarak adlandırılan diyabetik retinopati, nefropati, nöropati ve çeşitli damar hastalıklarından ileri gelmektedir. Bu komplikasyonların bazıları ilk aylarda gelişse de çoğu birkaç yıl geçtikten sonra ortaya çıkmaktadır. Komplikasyonların çoğu ilerleyici yapıdadır. Biyokimyasal mekanizmaların içinde en fazla araştırılanları Tablo 2.1'de özetlenmiştir (36)

DM dünyada en sık ayak amputasyonunun sebebidir. Alt ekstremitte amputasyonu uygulanan hastaların %51'ini diyabete bağlı amputasyonlar oluşturur. Amputasyon oranı ilerleyen yaşla artış gösterir ve erkeklerde daha fazladır. Diyabetik hastaların %9-13'ünde ilk amputasyon sonrası ilk 1 yıl içerisinde yeni bir ipsilateral veya kontralateral amputasyon uygulanır. İlk amputasyon sonrası 5 yıl içerisinde ise %28-51'i yeni bir amputasyona gider ve bu hastaların yaklaşık %40-66'sı 5 yıl içerisinde ölürlere (58).

Tablo 2.1. Diyabetin yol açtığı komplikasyonlar (36)

Akut Komplikasyonlar	Hiperglisemi ve ketoasidoz - dehidratasyon - non-ketotik hiperozmolar koma Hipoglisemi koması Laktik asidoz ve koması
Subakut Komplikasyonlar	Eklem aktivitesinde kısıtlanma Osteopeni Katarakt Büyüme geriliği Pubertede gecikme Emosyonel bozukluklar Dislipidemi
Kronik Komplikasyonlar	Mikrovasküle komplikasyonlar - Retinopati - Nöropati - Nefropati Makrovasküler komplikasyonlar - Koroner arter hastalıkları - Serebrovasküler hastalıklar - Periferik vasküler hastalıklar Kardiyomyopati Gastroparazi Eretil disfonksiyonlar

Diyabetik ayak ülserleri major ekstremitte amputasyonuna kadar gidebilen ciddi sorunlar yaratabilmesi bakımından üzerinde önemle durulması gereken konulardır. Yapılan araştırmalarda DM'lu hastaların yaklaşık %15'inde hastalıklarının bir döneminde ayaklarında ülser geliştiği gösterilmiştir. Amerika'da yapılan bir araştırmada hastaneye yatırılan diyabetik hastaların %6'sının ayak ülseri nedeniyle hastaneye yatırıldığı tespit edilmiştir. Bu tür hastaların hastanede yatış süresi, yatış nedeni ayak ülseri olmayan diyabetik hastalara oranla %59 daha fazladır (59). Ayak ülseri yüksek oranda morbitide ve mortalite oranının yanı sıra hasta ve ailesi için ciddi problemler yaratmaktadır. Hastaların tedavi süresince başkalarına bağımlı yaşamaları ve tedavinin çok yüksek maliyetli oluşu sosyo-ekonomik sorunları beraberinde getirir. Amerika'da diyabetik ayak nedeniyle yatan bir hastanın tedavi maliyeti ortalama 36.000 dolar olarak bildirilmiştir (59).

Günümüzde hastaların yaklaşık %30-40'ında izlenen nefropati, DM'un en önemli komplikasyonları arasında gösterilmektedir. Glomeruler, tubuler ve tubulointerstitiyel yapı değişikliklerini içeren diyabetik böbrek hasarının gelişim mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır (60). Böbrekler diyabette önemli hedef organlardır. Diyabetes mellitusa bağlı oluşan ölümlerde böbrek yetmezliği, miyokard infarktüsünden sonra ikinci sırada yer almaktadır. DM böbreklerde, glomerüler lezyonlar, renal damarlarda ateroskleroz ve piyelonefrit oluşturmaktadır (60).

Aşağıdaki risk faktörlerini taşıyan diyabetik hastalarda nefropati olmak üzere birçok diyabetik komplikasyonun görülme olasılığı yüksektir.

Risk faktörleri

- Hipertansiyon
- Kontrolsüz uzun süreli diyabet
- Obezite
- Yüksek protein içerikli diyet
- Genetik faktörler
- Hiperlipidemi
- Sigara kullanımı
- Stres

Ancak hiperlipideminin (glukoz otooksidasyonu ve protein glikolizasyonu ile) serbest oksijen radikallerinin oluşum hızını artırması ve koruyucu antioksidan kapasiteyi düşürmesiyle ortaya çıkan oksidatif stresin diğer diyabetik komplikasyonlar gibi böbrek üzerinde de etkisi olabileceği bildirilmektedir (60).

2.3. Periodontitis ve Diabetes Mellitus ilişkisi

Amerikan diyabet birliğinin “DM Teşhis ve Sınıflandırma Uzman Komitesi” nin, DM hastalarında son 30 yıldır yapılan çalışmaları değerlendirdiği

raporda, periodontal hastalık, tip I ve tip II DM'nin uzun dönem komplikasyonlarından biri olarak kabul edilmiştir (61). 18 yaşından büyük 3524 erişkinin değerlendirildiği dört çalışmanın sonuçlarına göre DM ile periodontal hastalık arasındaki ilişki kanıtlanmış, diştaşı ve dental plak gibi lokal faktörlerden ve hastanın yaşından bağımsız olarak DM'nin periodontal hastalık riskini 2 katı arttırdığı bildirilmiştir (62). Periodontal hastalığın diyabetin komplikasyonlarından biri olduğu yönündeki veriler gün geçtikçe artmakta ve periodontal hastalık günümüzde DM'nin altıncı komplikasyonu olarak kabul edilmektedir (63).

Bazı araştırmacılar diyabet ve gingival hastalık arasında önemli bir ilişkili bulamamalarına rağmen (21), klinik ve epidemiyolojik veriler diyabetli bireylerin, sağlıklı bireylere göre yüksek prevalansta ve daha şiddetli periodontitise eğilimli olduğunu göstermektedir (49). Ayrıca, diyabet kontrolü kötü olan bireylerde periodontitis, iyi kontrollü diyabetiklere göre daha fazla görülmektedir. Ancak iyi kontrollü diyabet hastaları da periodontal problemler yaşayabilmektedir. Bu nedenle, diyabete bağlı bazı metabolik değişikliklerin, bireyin periodontal yıkıma karşı direncini azalttığını ve konak cevabındaki diyabete bağlı bu değişikliklerin önlenabilir ya da glisemik kontrolle geriye döndürülebilir olmadığı ileri sürülmektedir (64).

Tip 1 diyabetli çocuklarda aynı plak seviyelerine sahip olan sağlıklı çocuklara göre daha fazla gingival inflamasyon olduğu saptanmıştır (22). Diyabetli çocuklarda, sağlıklı çocuklara oranla iki kat daha fazla bölgede gingival inflamasyonun olduğu gösterilmiştir (23,28). Glisemik kontroldeki gelişme gingival infalamasyonun azalması sonucunda daha iyi bir şekilde kontrol edilebilir (24, 27, 28). Aynı şekilde glisemik kontrol sağlandığında da dişetindeki kanama alanları azalma göstermiştir (28). Özellikle zayıf glisemik kontrolü bulunan tip 2 diyabetli yetişkinlerde de sağlıklı kontrol gruplarına göre daha fazla gingival inflamasyon görülmektedir (28).

Periodontitis ile serum proenflamatuar sitokin düzeyleri önemli miktarda artmaktadır. Bu nedenle TNF- α ve IL-1 β gibi proenflamatuar sitokinlerin düzeyinin periodontitise bağılı olarak artmasının, çeşitli sistemik hastalıkların oluşumunda rol oynayabileceği düşünülmektedir (64, 65). TNF- α miktarındaki artış, insülin reseptörlerindeki tirozinkinaz aktivitesini inhibe ederek, hücreler arası insülin sinyalini değiştirmekte ve insüline hassas glukoz taşıyıcılarının sentezini azalmaktadır. Bu şekilde Tip 2 diyabet hastalarındakine benzer bir insülin direnci sendromu oluşturmaktadır (66). Enfeksiyona bağılı olarak oluşan insülin direnci sendromu, TNF- α ve IL-1 β 'nın aşırı salımı ile oluşan proenflamatuar dengesizlik, diyabetik hastalarda β hücresi yıkımının en kritik belirleyicisidir (64, 65, 67).

Periodontitis ve insülin direnci arasındaki potansiyel bağlantıyı araştıran pek çok çalışma yapılmıştır (51) Lösche ve ark. (68) orta dereceli periodontitisi olan, sistemik açıdan sağlıklı bireylerde, kan glukoz düzeylerinin, periodontitisi olmayan bireylere göre önemli oranda yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu gözlemden yola çıkarak periodontitisli bireylerin glukoz dengesinin bozulduğu ve “prediyabetik” bir duruma geldikleri sonucuna varılabilir (9).

Kronik enfeksiyon olan periodontal hastalıkların, lokal ve sistemik konak cevabını harekete geçirdiği ve bakteriyemiye neden olduğu düşünülürse, periodontal ve sistemik sağlık arasındaki çift yönlü ilişki net bir biçimde ortaya çıkmaktadır. Bu ilişkiyi etkileyen sistemik hastalıkların en önemlilerinden biri olan DM'nin periodontal hastalık yıkım hızını arttırabileceği pek çok çalışmada bildirilmiştir (10, 69, 70).

DM hastalarında periodontal hastalık gelişimine katkıda bulunan bazı etkenler vardır. Bu etkenler; nötrofillerinde bakteriyel tutunma, kemotaksis (10) ve fagositoz defektleri (46,70), damarsal değişiklikler (70), kollojen üretimindeki azalmanın yanı sıra kollojenaz aktivitesinin artması (9), ileri glikasyon son ürünlerinin oluşumu (66) ve insülin razistansının indüklenmesidir (9). Diyabet hastalarında gingivitisin gelişmesinden 15-22 gün sonra gingival dokularda

kollojenaz aktivitesi en üst düzeye ulaşır (33). Bütün bunlar enfeksiyona yatkınlığı ve aynı zamanda periodontitisin yaygınlığını ve şiddetini arttırabilmektedir (46). Serum glukoz düzeyinin kontrolü, bu faktörleri kısmen geriye döndürerek, enfeksiyon oluşumu riskini azaltmaktadır (9).

Kontrol edilmemiş ya da kötü kontrollü diyabet, periodontitisi de içeren oral enfeksiyonlara hassasiyeti ve ağız kuruluğunu arttırmaktadır (9,45). Tip II DM'nin periodontal enfeksiyon sonucu üretilen TNF- α ve IL-1 β 'nin insüline karşı doku direnci geliştirdiği ve sonrasında gelişen hiperglisemik tablodan sorumlu olduğu ileri sürülmektedir (67). İnsülinin etkilerine karşı doku direnci oluşması hipertansiyon, Tip 2 DM ve koroner arter hastalığı gibi pek çok kronik sistemik etkilere neden olmaktadır (18). İleri sistemik komplikasyonu olan diyabetik bireylerde periodontal hastalıklar daha sık görülmekte olup (9), özellikle kötü kontrollü DM'li ya da hiperglisemili hastalarda bu iki hastalık arasında ilişki olduğu teorisi birçok çalışma ile desteklenmiştir (14, 71, 72, 73).

Klinik ve epidemiyolojik veriler diyabetli bireylerin sağlıklı bireylere göre yüksek prevalansta ve daha şiddetli periodontitise eğilimli olduğunu göstermektedir (53, 64, 65, 71). Ayrıca, diyabet kontrolü kötü olan bireylerde periodontitis, iyi kontrollü diyabetiklere göre daha fazla görülmektedir. Ancak iyi kontrollü diyabet hastaları da periodontal problemler yaşatabilmektedir. Bu nedenle, diyabete bağlı bazı metabolik değişikliklerin, bireyin periodontal yıkıma karşı direncini azalttığı ve konak cevabındaki diyabete bağlı bu değişikliklerin önlenabilir ya da glisemik kontrolle geriye döndürülebilir olmadığı ileri sürülmektedir (67). İmmün hücre fenotipindeki diyabete bağlı olarak oluşan değişikliklerin ve serum proenflamatuvar sitokin ve lipid düzeylerinin periodontal yıkımdan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Son çalışmalar, periodontitisin de kendi başına benzer değişiklikleri oluşturabildiğini ortaya koymuştur (67).

Mikrobiyal eklentilerin uzaklaştırılması ve inflamasyonun kontrol altına alınması başarılı bir periodontal tedavi için şarttır. Diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi ile birlikte yeterli plak kontrolünün etkin periodontal tedavi

sağladığı görülmüştür (9, 51). Diyabet ve periodontitis arasındaki sinerjistik ilişkiler, periodontitisin etkin tedavisi ile bazı diyabetik komplikasyonların ve hipergliseminin de düzeltilebildiğini gösteren son çalışmalarla ispatlanmıştır (71, 74). Miler ve ark.(51) zayıf kontrollü diyabetik bireylerde periodontal tedavi sonucunda dişeti iltihabi ve kan glukoz seviyesinde azalma, dişetinde kanama ile kan glukoz düzeyleri arasında da bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. Bazı araştırma sonuçlarına göre de Tip 1 DM'li bireylerin periodontal tedavilerini takiben insülin ihtiyaçlarında azalma elde edilmiş ve bulguları dental tedavinin önemini ortaya çıkartmıştır (51, 70). Periodontal tedavinin HbA1c düzeylerine etkisini araştıran bir çok çalışma yapılmıştır (51, 75, 76). Bir grup araştırmacı (64, 68, 73) DM'li bireyler ve sağlıklı kontrol bireyleri arasında sadece periodontal tedavinin HbA1c değerine anlamlı bir değişim yapmadığını saptarken diğer bir grup araştırmacı (51, 76) da mekanik tedavi ile sistemik ve lokal antibiyotik uygulamasının HbA1c değerinde anlamlı bir değişime neden olduğunu bulmuşlardır. Alridge ve ark. (77)'da Tip 1 DM'li bireylerde aylık 2 ayrı periodontal tedaviyi takiben, glikohemoglobin ve fruktozamin düzeylerindeki değişimi değerlendirmiş fakat anlamlı bir sonuç elde edememişlerdir. Ship (75), erişkin diyabetli hastalara ultrasonik kazıyıcı ile detartraj, küretej ve sistemik doksisisiklin tedavisi uygulanmış ve yaklaşık 3 ay sonra HbA1c ortalamasında önemli bir azalma bulmuştur.

2.4. Dişeti Oluğu Sıvısı

Dişeti oluk sıvısı (DOS); seruma benzer ekstrasellüler bir sıvı olup dişetin epitelium tabakasını geçerek dişeti oluğundan ağız içine akar. DOS esas olarak mikrovasküler sızıntıdan kaynaklanmaktadır. Buna ayrıca hücreler arası sıvı ve hücrel sitoplazma da eklenir. DOS dişeti oluğu bölgesindeki bakteri ve konak hücrelerinin metabolik elementlerini de içerir (26, 78).

Genel olarak inanılan görüş, DOS'un iltihabi bir sıvı olduğudur (78, 79). DOS ile ilişkili başlangıçtaki araştırmalar, DOS oluşumunu dişeti oluğu ve bağlantı epitelinin altındaki iltihabi değişikliklerle ilişkilendirmişlerdir (80, 81, 82).

Bu değişiklikler aslında kimyasal ve mekanik yollarla kan damarlarında meydana gelen geçirgenlik artışıdır. Bu erken çalışmalar kan dolaşımına katılan maddelerin DOS'ta yer aldığını göstermişlerdir (81, 82, 83). Daha sonra köpeklerde yapılan deneyler, DOS akışının çiğneme veya diş fırçalama ile uyarıldığını, ayrıca intravenöz histamin enjeksiyonu ve iltihap gelişimini takiben belirgin derecede arttığını göstermektedir (84). Bu veriler, kimyasal ve mekanik bazı irritasyonların DOS retimi için gerekli olduğu ve bu nedenle DOS'un patolojik bir yapı olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucunu vermektedir.

Pashley ve arkadaşları (85), DOS'un osmotik basıncın bir sonucu olarak dişeti oluğuna aktığı hipotezini ne sürmüşlerdir (85). DOS'un içeriğine ilişkin yapılan çalışmalar, bu sıvının içeriğinin dişetinin iltihabi ile değiştiği hipotezini savunmaktadırlar (86, 87). Bununla beraber sağlıklı dişeti oluğundan toplanan küçük sıvı hacimleri sağlıklı ekstrasellüler sıvıya benzer bir içeriğe sahiptir. DOS, içerisinde bulundurduğu plazma proteinleri ile dişetinin dişi daha sıkı kavramasına yardımcı olur, diş eti oluğunu yıkayarak temizler ve antibakteriyal bir etkiye sahiptir (85). Ayrıca DOS, antibiyotikler gibi sirklsyonda bulunan maddeleri ve konak kaynaklı antibakteriyal maddeleri dişeti oluğu bölgesine taşır. Bahsedilen işlevleri içerisinde en önemli olanı DOS'un yıkama fonksiyonudur (79).

DOS, saatte birkaç mikrolitre gibi küçük bir akış hızına sahiptir. Ağız boşluğuna günde 0.5 - 2.4 ml DOS akışı olur. DOS, epitel hücreleri arası boşluğa, oradan da dişeti oluğuna geçiş yapar (83). DOS hacminin ve akış oranının ölçümü, kanama ve renk değişimi gibi sübjektif ölçümlerden ziyade iltihabın iyi bir erken belirticisi olabilir. Sağlıklı bir periodonsiyumda DOS ya hiç yok ya da çok az vardır.

Cimasoni'nin (88) 1983, Borden ve arkadaşlarının (89) 1977 yılında yaptıkları alışmalar, DOS akış oranının iltihabın şiddeti ile doğru orantılı olduğunu göstermiştir. DOS akış oranı, gingivitis ve periodontitis gibi iltihabi periodotal hastalıklarda, sert gıdaların çiğnenmesi, dişeti masajı, oral

kontraseptif ajanların kullanımı, ovulasyon, menstruasyon, hamilelik ve periodontal tedaviler esnasında oluşan travma durumlarında artar.

DOS'taki bakteriyel ve konak doku kaynaklı ürünler periodontal hastalıkların teşhis ve patogeneğinde bir belirti olarak çeşitli çalışmalarda ölçülmüştür. DOS'taki konak doku cevabının göstergesi olan moleküllerin önemli bir kısmı nötrofiller ve monosit/makrofajlardan kaynağını alırlar (26). DOS'ta saptanan nötrofil mediyatörleri, lökotrien B₄ (LTB₄), platelet aktive edici faktör (PAF), tromboksan B₂, elastaz, kollojenaz ve bir grup antioksidan enzimlerdir (66,90). Ayrıca monosit/makrofajlar, prostoglandin E₂ (PGE₂), IL-1, interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) ve TNF gibi iltihabi mediyatörleri salgırlar (91,92). Periodontal bağ dokusunun yıkımının bir göstergesi olarak DOS'ta hidroksiprolin ve pridinolin gibi kollojen yıkım ürünleri de bulunur. (Tablo2.2) (26).

DOS'ta konak doku cevabından kaynaklanan moleküllerin bir kısmının miktarında artış (66,93) bir kısmının miktarında ise azalma olması (90) periodontal hastalık göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

DOS'un toplanmasında, yapılan çalışmanın hedefine bağlı olarak çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Çünkü her bir tekniğin kendisine özgü avantaj ve dezavantajları vardır. Tekniklerde farklı araştırmacılar tarafından uygulanan çeşitli modifikasyonlar söz konusudur (83). Bu teknikler;gingival yıkama metodu, kapiller tüpler veya mikropipetler ile toplama, emici kâğıt şeritler ve dişin etrafına oluk içine yerleştirilen ipliklerdir.

Tablo 2.2. DOS içinde saptanabilen moleküller (26)

Enzimler	Lizozim, MMP-8, MMP-2, MMP-9, MMP-13, Nötral proteaz, Dipeptidilpeptidaz, Alkalın fosfataz, Aspartat aminotransferaz, Miyeloperoksida, Kreatin kinaz, Laktat dehidrogenaz, Elastaz, β -Glukoronidaz, Katepsin G, D, B, Plazminojen, Gingipain, Süperoxide dismutaz, Gluthation peroxidase
Proteinler	Laktoferrin, Sistatinler, Neopterin, β -NAH, TIMP, osteopontin, kalprotectin, hyaluronik asit, kondroitin sülfat, endotelin, proteoglikan, trombomodulin, transferin, C-reaktif protein, α -2 makroglobulin, α -1 antitripsin, ICTP, α -1-EPI, NTx, E-selektin, nörokinin_A, MRP-8, kalsitonin, albumin
İmmünoglobülinler	IgA, IgG, IgM, IgE
Sitokinler	VEGF, IL-1 β , TNF- α , IL-2, INF- α , IL-10, RANTES, IL-8, IL-1ra, IL-4, IL-6, TGF- β , HGF, EGF
Diğerleri	PAF, Lökotrien B4, Tromboksan B2, Hidroksiprolin, Lipoksin A, Keratin, Substans P, PGE2, Glukoz, ICAM-1, Metilglukosil, Laktik asit, Propiyonik asit, Butirik asit, Filloguinin, Volatile sülfür bileşikler, Glutatyon, Hidroksisilpridinolin

Filtre kâğıt şeritlerle sıvının toplanması da metod olarak ikiye ayrılır;

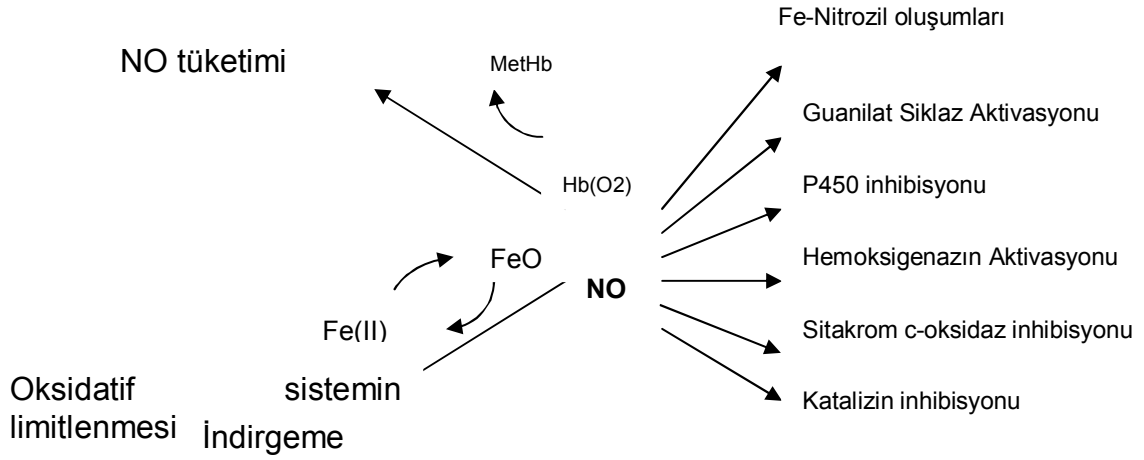
- İntrakrevikular teknik: Kâğıt şerit diş eti oluşu içerisine sığ ve derin olarak iki şekilde yerleştirilebilir. Bu teknik daha sık kullanılır.
- Ekstrakrevikular teknik: Travmayı en aza indirmek için kâğıt şerit diş eti oluşu üzerinde seyredir.

2.5. Nitrik Oksit

Azot oksitler; azot elementinin oksitlenme durumuna göre beş farklı molekül olarak teşekkül edebilirler: NO, NO₂⁻, NO₂, NO₃⁻, N₂O. Azot oksitler içinde en fazla biyolojik aktiviteye sahip olan molekülü Nitrik Oksit (NO) olup, biyolojik ortamlarda NO⁻ radikali halinde bulunmaz. Sulu sistemlerde ve havası arayüz ortamlarda NO⁻ radikali yüksek reaktivliğinden dolayı hemen nitrit ve nitrat ürünlerine dönüşür (94, 95).

NO; suda ve yağda çözünebilen, solüsyon içerisinde yarılanma ömrü 30 saniye olan, stabil olmayan bir gazdır (96). Nitrojenin yedi ve oksijenin sekiz elektronunun etkileşimi ile oluşan yüksüz NO molekülü üzerinde ortaklaşmamış bir adet elektron taşır ve bu elektron NO molekülünün paramagnetik özellikli, yüksek reaktiviteye sahip bir radikal olmasına neden olur (94). NO⁻ radikali, süperoksitleri kendisine bağlayarak yüksek aktiviteli ve yarılanma ömrü uzun olan peroksinitrit oksidanını oluşturur. Oluşan peroksinitrit iyonu ise nötr pH'da yükseltgenerek nitroz okside dönüşür (94, 95, 97). NO molekülü geçiş metalleri ile reaksiyon vererek metal komplekslerini oluştururlar. NO'nun geçiş metalleri ile olan başlıca üç reaksiyonu sırasıyla metal merkezi ile doğrudan etkileşmesi, dioksijen metal kompleksleri ile redoks tepkimeleri ve yüksek değerlikli okso-kompleks oluşum tepkimeleridir (97) (Şekil 2.1).

Oksitlenme



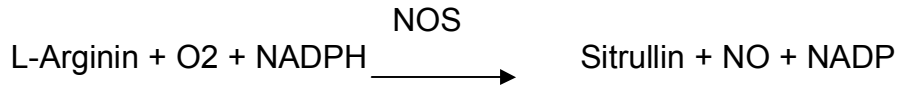
Şekil 2.1 Nitrik oksitin kimyasal reaksiyonları

2.5.1. Nitrik Oksitin Biyosentezi

Nitrik oksit hücrel patofizyolojide önemli rol oynayan çözünebilir bir serbest radikal gazdır. Memelilerde NO'nun varlığı ilk kez 1916 yılında gösterilmiştir. 1980'de Furchgott ve Zawadzki, asetilkolin tarafından indüklenen vasküler gevşemede endotel varlığına gereksinim gösterdiğini bildirmişlerdir.

1985 yılında ise aktive olmuş makrofajların NO salgıladığı bulunmuştur. 1986'da endotel kaynaklı gevşetici faktörün (EKGF) NO olabileceği düşüncesi ileri sürülmüştür. 1987 yılında Palner ve ark. EKGF'nin bilinen biyolojik etkilerinden NO'nun sorumlu olduğunu bildirmişlerdir (98). Sonrasında NO sentezi için L-argininin öncü madde olduğu ve NO sentezinin inhibisyonu için L-arginin bazlı hem analoglarının kullanılabileceği gösterilmiştir. Endotel kaynaklı gevşetici faktörün NO olduğu belirlendikten sonra bu molekülün birçok hücre ve organ sisteminde üretilerek fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda etkili olduğu yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (99).

Endotelyum, serebellum, nonadrenerjik, nonkolinerjik sinir hücreleri, makrofajlar, nötrofiller, böbrek, pulmoner epitelyum hücreleri, gastrik mukoza ve miyokard gibi birçok dokuda NO aktivitesi olduğu bildirilmiştir. NO, Nitrik Oksit Sentetaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenmektedir. NOS, moleküler oksijen ve NADPH'nin varlığında, L-arginin'i sitrulin ve NO'ya dönüştürür (100) Ko-substrat olarak NADPH ve oksijen kullanılır (101).



NOS'ın üç farklı izoformu bulunur. Nöronal NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS) ve indüklenebilen NOS (iNOS) (102). Bu izoformların hepsi de homologdur (102).

Tablo 2.3. Nitrik oksit sentaz izoformlarının özetlenmesi

İZOFORM	AKTİVİTE	İLK TANIMLANDIĞI HÜCRE	YERLEŞİM	ÜRETİLEN NO KONS.
Tip I NOS (c-NOS)	Ca ²⁺ bağımlı	Nöronlar	Genellikle membrana bağlanır	Pikomolar
Tip II NOS (i-NOS)	Ca ²⁺ bağımsız	Makrofaj/Monositler	Sitozol	Nanomolar
Tip III (e-NOS)	Ca ²⁺ bağımlı	Endotelial	Genellikle membrana bağlanır	Pikomolar

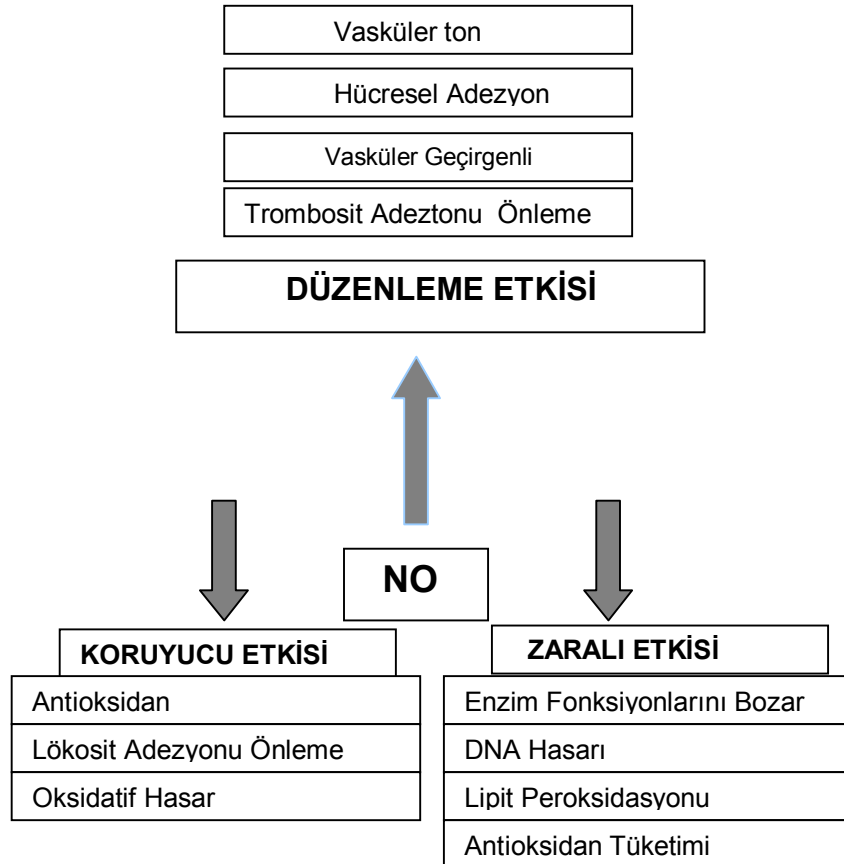
NO'nun İki izoformu Ca^{+2} bağımlıdır. Ancak iNOS'un uyarılması ve salınımı proinflatuar mediatörler tarafından gerçekleştirilir. Birçok hücre her üç NOS izoformunu da sentezleyebilmektedir. Ancak iNOS üretimi yüksek miktardadır ve konak savunma mekanizmasının kontrolü altındadır. iNOS izoformu normal fizyolojik şartlarda makrofaj ve hepatositlerde bulunmaz. Ancak, bu hücreler spesifik sitokinler tarafından uyarılması sonucunda, i-NOS enzimi üretirler ve çok yüksek miktarda NO sentezi gerçekleştirirler. i-NOS, transkripsiyonel olarak regüle edilir. NO'nun devam eden fazla miktarda üretimi, proteinleri öldürür ya da inhibe eder. Makrofajlardan üretilen i-NOS, Ca^{++} bağımsızdır ve etki süresince NO'yu nanomolar düzeylerde üretirler. Yapısal izoformlar (cNOS), endotel hücreleri (eNOS) ve nöral dokuda (nNOS) sentezlenir. Uyarılabilir izoformlar (iNOS)'lar ise değişik hücrelerde sentezlenir (Tablo 2.3). Uyarılabilir izoformlar makrofaj, hepatosit, kondrosit, vasküler düz kas, akciğer epitelyumu ve küpfer hücrelerinde bulunur (103).

Fizyolojik değişimde üretilen NO esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrate (NO_3^-) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. Aerobik ortamda NO stabil değildir (104) .

NO, fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda vazoregülasyon ve hücrel toksiteyi gösteren bir biyoregülatör molekülüdür (99). NO fizyolojik konsantrasyonlarda, hemen hemen tüm organ sistemlerinde değişik biyolojik etkilere sahiptir. NO gastrointestinal sistem, havayolları, kavernoöz dokulardaki vasküler düz kasların gevşemesinde önemli bir mediyatördür. Bunun yanı sıra damar basıncının ayarlanmasından ve kan hücreleriyle endotel arasındaki etkileşimin düzenlenmesinden sorumludur (105). NO merkezi sinir sisteminde, hafızanın şekillenmesini de içeren çeşitli fonksiyonları bir nörotransmitter olarak destekler. Periferde ise gastrointestinal, solunum ve genitoüriner sistemle ilgili çeşitli fonksiyonları düzenler. İlave olarak NO'nun, konak savunması ve immünolojik reaksiyonlarda da fonksiyonları vardır. Miyokard fonksiyon bozukluğu, dolaşım yetmezliği ve farklı organ disfonksiyonu ile sonlanan

durumlara, artmış NO formasyonunun katkısı olabilir. Diğer taraftan artmış NO, vazodilatasyona, trombosit agregasyonunun engellenmesi ile dokuların mikrosirkülasyonunda rahatlamaya ve sonuçta da dokuların oksijenlenmesi yönünde çok yararlı katkı sağlayabilmektedir (106,107) (Şekil 2.2).

Nitrik oksit, pro-inflamatuar veya antiinflamatuar etkileriyle akut ve kronik inflamasyonda önemli bir role sahiptir. Nitrik oksit oldukça reaktif bir moleküldür ve doğrudan ya da peroksinitrit oluşumu yoluyla oksidan etki gösterir. Bu oksidan özelliği nedeniyle bakterisid ve tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterir ve savunma sisteminin bir parçası olarak görev yapar (108). Ancak aynı özellikler astımda görülen inflamasyonun da bir nedeni olabilmektedir (108,109). Nitrik oksidin birçok zararlı etkisi süperoksit anyonu ile reaksiyonu sonucu oluşan peroksinitrite bağlı olarak ortaya çıkar. İnflamatuar süreçte NO ve süperoksit radikallerinin oluşumu epitelyum hasarına, medyatör salımına ve havayolu duyarlılığın artmasına sebep olmaktadır (108).



Şekil 2.2. Nitrik oksitin insan vücudundaki etkileri

2.6. Periodontal Hastalık ve Nitrik Oksit İlişkisi

Periodontal hastalıklar, gram (-) mikroorganizmalar tarafından uyarılan ve makrofajlardan NO salımına neden olan kronik bir rahatsızlıklardır (110). 1987 yılında biyolojik bir mesajcı olarak tanımlanmasından bu yana NO'nin birçok hastalıkla ilişkisi olduğu gösterilmiştir. NO, birçok fizyolojik ve patolojik süreçte anahtar rol oynayan bir serbest radikaldir. iNOS proinflamatuvar uyarıya yanıt olarak açığa çıkar ve çok miktarda NO üretir. NO, kollojen birikimi ve mekanik stres oluşumu ile de ilişkilidir. NO eksikliği yara iyileşmesinde bozulmaya sebep olur. Tüm NOS türleri yara iyileşmesinde yer almaktadır (111, 112, 113).

NO bir yandan bakteriyel plakta bakteri öldürmeye yararken öte yandan konak dokuda hasara neden olabilmektedir (114, 115, 116). İnflame periodontal dokularda iNOS aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (115,116). NO'nin hem periodontitis hem de kemik kaybı patogenezinde önemli rol oynadığı ve bunun ya doğrudan ya da dolaylı olarak proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ile olduğu bildirilmiştir (116).

Periodontitiste iNOS indüksiyonunun bakteriyel lipopolisakkaritlere veya periodontal hastalıkta yer alan sitokinlere yanıt olarak ortaya çıktığı öne sürülmektedir. Bu mediatörler arasında; IL-1 β , TNF- α ve interferon gama (IFN- γ) başta gelmektedir. Ayrıca transforming growth factor β (TGF- β), IL-4 ve IL-10'da makrofajlardan iNOS salınımı arttıran diğer mediatörlerdendir (117).

Yapılan çalışmalar düşündürmektedir ki NO, sitokin aktivasyonu ile ilişkili inflamatuvar durumlarda doku ve kemik yıkımının yönlendirilmesinde anahtar rol üstlenebilir. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada NO'nun matriks metalloproteinazları (MMPs) aktive ettiği gösterilmiştir (118)

Tükrükteki, dokulardaki ve cep sıvısındaki NO, patojenik bakterilere karşı oral kavitenin nonspesifik doğal savunma mekanizmasının bir parçası olabilir

veya alternatif olarak aşırı NO miktarı, periodontitiste doku yıkımını arttırıcı etki yapabilir (119).

KP'li hastalarda toplanan doku örneklerinde iNOS miktarı sağlıklı dokulara göre daha fazla bulunmuştur (120, 121, 122). KP'li hastalardan alınan dokularda, reverse transcription-polymerase chain reaction çalışması sonucunda iNOS mRNA-pozitif alanlar sağlıklı bireylere oranla daha fazla bulunmuştur (123). İmmünohistokimyasal boyama sonrasında bağ dokudaki iNOS-pozitif boyanan inflamatuvar hücreler genellikle makrofajlar olarak bulunmuştur (122). KP'de gingival fibroblastlarda iNOS ekspresyonunda belirgin bir artış bulunmuştur. Merkaptoetilguanidin bir NO inhibitörüdür ve ligatür ile indüklenen periodontitisli kemirgenler üzerinde yapılan bir çalışmada bu molekülün kullanımı ile kemik yıkımının önlendiği gösterilmiştir.

2.7. Diabetes Mellitus ve Nitrik Oksit İlişkisi

Günümüzde DM ve iNOS arasındaki ilişkiyi gösterebilen çalışmalar genellikle vazodilatasyon üzerinde etkisi olan ve damar endotel hücrelerinden ve plateletlerden salınan endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) üzerine yoğunlaşmış durumdadır. Bunun nedeni, DM'nin etki ettiği birincil sistem kalp-damar sistemi olmasından kaynaklanmaktadır ve araştırmacılar genellikle bu iki sistem arasındaki mekanizma üzerine durmaktadır. Endotelial disfonksiyon, diyabetik anjiyopatinin patogeneziinde esas element olarak kabul edilmektedir. Bir serbest radikal olan NO endotelial kaynaklıdır ve güçlü bir vasodilatatördür. Siklik Guanozin Monofosfatın formasyonu ile Guanilat Siklaz'ın aktive olması sonucunda üretimi gerçekleşir. Oluşan bu NO'nun hem hücre koruyucu hem de hücre öldürücü etkisi vardır (103). NO, yüksek reaktif bir oksit olan peroksinitrit oluşturmak üzere süperoksit ile reaksiyona girebilir. Birçok hastalıkta olduğu gibi diyabette de aynı durumla karşılaşılabilir. Peroksinitrit, yüksek reaktif ve toksik bir bileşik olan hidroksil anyonu ve nitrojen dioksite ayrışır. Peroksinitritin biyolojik sıvılara geçişiyle aromatik amino asitlerin nitratasyonu meydana gelmeye başlar ve dokularda NO aracılığı ile oluşmuş olan peroksinitrit yıkımı

başlar. Böylelikle NO ve ROT'lar arasında kompleks bir etkileşim meydana gelmiş olur (125).

Diyabetli bireylerin göz sıvısında yüksek oranda NO tespit edilmiştir ve hücre harabiyetine sebep olan inflamatuvar reaksiyonlar ve immün cevap tarafından uyarılmış olabileceği düşünülmektedir (126). Biswass tarafından yapılan bir çalışmada, diyabetik bireylerin PMNL'eri tarafından salınan NO miktarının, kontrol grubuna göre daha yüksek oranda olduğunu rapor etmiştir (127). β hücre yıkımından birincil derecede sorumlu olan makrofajlar, diyabetli bireylerde yüksek miktarda NO salımı gerçekleştirmektedirler (128).

Oksidatif baskı ve beraberinde gelen doku yıkımı, kronik hastalıklarda görülen en önemli olgulardan biridir. Diyabetik durum sırasında, ROT, glukoz otoksidasyonu aracılığıyla gerçekleşir (123). ROT, mikrovasküler komplikasyonlara sebep olmaktadır (Örneğin; göz, böbre ve sinir harabiyeti). Ayrıca daha az sıklıkla diyabetli hastalarda kalp damarlarını da etkilemektedir (124).

NO'nun ölçülebilen stabil son ürünleri nitrit ve nitrattır. NO, nitrit ve nitrat üzerinden değerlendirilerek biyolojik sıvılar içerisindeki değeri ölçülebilmektedir. Nitrit. Nitrat ve damar endotelial büyüme faktörlerinin konsantrasyonlarının anjiyopati gözlenen diyabetik hastaların vitröz sıvılarda arttığı gözlemlenmiştir. Böylelikle NO'nun anjiyogenez içerisine rolü olduğu anlaşılmıştır. Periodontal hastalıklarda olduğu gibi, NO'nun hızlı serum difüzyonu ile diyabetik retinopatinin patofizyolojisindeki rolü nitrit ve nitrat üzerinden değerlendirilerek elde edilir (148). Bu molekül, diyabetin oküler mikrovasküler komplikasyonları ve sistemik olarak komplikasyonlardan korunmak adına tedavide hedef molekül olarak görülebilir (129).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışma, Başkent Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı'na başvuran 80 bireyden oluşturulmuştur. Dahil edilen tüm bireyler, çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgilendirilmiş ve onayları alınmıştır. Çalışma modeli gereğince bireyler dört gruba ayrılmıştır. Bu gruplar, kronik periodontitis ve tip 2 diyabet hastaları (Grup I), sadece kronik periodontitis hastaları (Grup II), sadece tip 2 diyabet hastaları (Grup III) ve sağlıklı bireylerden (Grup IV) oluşmaktadır (Tablo 3.1). Her grupta 20 birey olacak şekilde 80 kişi ile çalışma tamamlanmıştır.

Tablo 3.1 Çalışma grupları

Grup I (DM+KP)	Daibetus Mellitus (tip2) ve Generalize Kronik Periodontitis - En az 6 dişte ≥ 5 mm cep derinliği. - Ağızda en az 20 dişi bulunması. - En az 5 yıl öncesinde tip II diyabet teşhisi konulmuş ve doktor kontrolü altında olması. Başka bir sistemik hastalığının bulunmaması.
Grup II (KP)	Generalize kronik periodontitis - Sistemik hastalığının bulunmaması. - En az 6 dişte ≥ 5 mm cep derinliği. - Ağızda en az 20 dişi bulunması.
Grup III (DM)	Daibetus Mellitus (tip2) - Periodontal açıdan sağlıklı olması. - En az 5 yıl öncesinde tip II diyabet teşhisi konulmuş ve doktor kontrolü altında olması. Başka bir sistemik hastalığının bulunmaması.
Grup IV (Kontrol)	Kontrol grubu Periodontal ve sistemik açıdan sağlıklı

Çalışmaya dahil edilen bireylerin seçiminde şu kriterlere dikkat edilmiştir:

1. Herhangi bir sistemik hastalığının bulunmaması (1. ve 3. gruptaki tip 2 diyabet hariç)
2. Sigara kullanmaması
3. Son 6 ay içinde antiinflamatuvar, oral kontraseptif, antibiyotik ve immün sistemi veya iltihabi yanıtı etkileyebilecek (immunosupresif) kullanmamış olması.
4. Son 6 ay içinde periodontal tedavi görmemiş olması.
5. Düzenli olarak herhangi bir ilaç kullanmamış olması.

Çalışma modeline uygun bireylerden sırasıyla cep oluğu sıvısı, periodontal indeksler, dişeti biopsisi ve diyabet durumunu belirlemek amacıyla kan alınmıştır. Klinik işlemlerin tümü aynı kişi tarafından uygulanmıştır. Cep oluğu sıvısı ve dişeti doku örnekleri aynı bölgeden alınarak, sırasıyla NO miktarının biyokimyasal ve iNOS'un immünohistokimyasal analizi yapılmıştır.

3.2. Cep Sıvısı Örneklerinin Alınması

Sondalama ile kesin periodontal durum belirlendikten sonra, en derin cebe sahip dişeti oluğuna yerleştirilen kâğıt şeritler¹ örnekleri laboratuvar incelemesi için seçilmiş ve saklama kaplarına alınmıştır. Örnekleme yapılırken tek köklü dişler tercih edilmiş ve her dişin meziobukkal ve ya distobukkal yüzeyleri kullanılmıştır. Doku örneklerinin sonuçları ile paralellik sağlayabilmek için dişeti oluğu sıvısı örnekleri aynı bölgeden alınmıştır.

Cep sıvısı örnekleri elde edilirken bölge, pamuk tamponlarla izole edilerek, hava spreyi ile 20cm uzaklıktan dik açı ile kısa süreli kurutma işlemi yapılmıştır. Sonrasında standart emici kâğıt şeritler aproksimal bölgelerden cebin girişine hafif bir direnç ile yerleştirilmiştir.

¹ Periopaper®, Proflow Inc., Amityville, NY, USA

2x8 mm kâğıt şeritler, bukkal serbest dişeti kenarından 1 mm kadar cep içerisine yerleştirilmiş ve 30 saniye süre ile bekletildikten sonra her bir kâğıt şerit hiç zaman kaybedilmeden DOS hacminin belirlenmesi için Periotron 8000² ile değerlendirilmiştir (Resim 1). Her bir kâğıt şeritin periotron ölçümünden önce üretici firmanın tavsiyesi doğrultusunda periotron elektrotları steril alkollü pamuk ile silinerek kurutulmuştur. Kuru bir periopaper ile “00” skoru ile kalibrasyonu kontrol edilerek. Hacmi okunan kâğıt şeritler eppendorf tüplerin içerisine yerleştirilmiş ve hastaya ait gerekli bilgiler tüplerin üzerine kaydedilmiştir. İşlemi tamamlanan tüpler -20°C’de korumaya alınmıştır. Bu prosedürler tüm çalışma gruplarında tedavinin başlangıcından önce bir kere uygulanmıştır.



Resim 1. Çalışmamızda kullanılan Periotron 8000

3.3.Periodontal Ölçümler

Tüm gruplarda periodontal durum; Sillness ve Löe'nin plak indeksi (Pİ), Löe ve Silness'in gingival indeksi (Gİ) ile değerlendirilmiş, klinik ataşman seviyesi (KAS) ve sondalama derinlikleri (SD) ölçülmüştür. Deneklerin sondalamada kanama (SK) gösteren bölgeleri kaydedilmiştir. Tüm periodontal ölçümler Williams periodontal sondası (Hu-Fridey, ABD) kullanılarak tek bir kişi tarafından gerçekleştirilmiştir.

² Oraflow PO Box 219, Plainview, NY, USA

Klinik ölçümler dişlerin 6 noktasından yapılmıştır (meziobukkal, bukkal, distobukkal, distal, distolingual, lingual, meziolingual). Daha sonra bu değerlerin ortalaması alınarak bireylerin Pİ, Gİ, SD, KAS ortalamaları elde edilmiştir.

3.4. Doku Örneklerinin Alınması

Çalışma gruplarında doku örnekleri, periodontal indeks ölçümleri yapıldıktan sonra, derin ceplerin DOS örneğinin elde edildiği bölgeden alınmıştır. Kontrol grubunda ve Grup III'den ise ortodontik diş çekimi, kron boyu yükseltme gibi dental işlemler ile dişeti doku örnekleri alınmıştır.

Doku örnekleri lokal anestezi altında, tersine eğimli insizyon tekniği ile alınmıştır. Örneklerin estetik problem yaratmayacak ve yara iyileşmesini bozmayacak şekilde; oral epitel, cep epiteli, bağ dokusu ve granülasyon dokusu içerecek şekilde, yaklaşık 2x2 mm² çapında olmasına dikkat edilmiştir. Alınan her doku örnekleri %10'luk formaldehit içeren kapların içerisine bırakılarak, ayrı kaplarda saklamaya alınmıştır. (Resim1). Alınan örneklerde inflamasyonun şiddeti, iNOS boyanma miktarı ve iNOS boyanma yoğunluğu incelenmiştir.



Resim 2. Doku örneklerinin saklandığı kaplar.

3.4.1. Doku Takibi ve İmmünohistokimyasal Boyama

Doku örnekleri %10 formaldehit içerisinde 24 saat tespit edilmiş, rutin tespit kontrolü ve takibi yapılmıştır. Sonrasında örnekler parafin bloklar içine gömülerek, her lam üzerine 5 mikron kalınlığında olacak şekilde, pozitif ve

negatif kontrol kesitleri alınmıştır. Kesitler 70°C'de ksilde 2 x 10 dakika, alkolde 3 x 5 dakika olmak üzere deparafinize edilip, fosfat tamponlu serum fizyolojik içinde (PBS, pH 7,4) yıkanmıştır. Kesitlerin çevresi kurutulduktan sonra nemli ortamda bekletilmiştir ve kit prosedürüne göre¹ doku örnekleri şu sıra ile hazırlanmıştır;

1. Kesitler tamamen kaplanacak şekilde 1 ml "Peroksidaz Blocking Reagent" (%3'lük H₂O₂'li methanol) damlatılarak, 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu uygulamayla doku örneğindeki endojen peroksitler yok edilerek, nonspesifik zemin boyanması minimize edilmeye çalışılmıştır.

2. Takiben kesitler distile suda 3-5 dakika yıkanmıştır.

3. Yıkanan kesitler 10 mM sitrat tampon (pH 6,0) solüsyonuna içerisinde konularak, mikrodalga fırında 500°C'de 5 dakika, 600°C'de 4 dakika, 700°C'de 3 dakika kaynatılmış ve antijen sabitlenmiştir.

4. Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler oda ısısına gelene kadar sitrat tampon içerisinde 50 dakika bekletilmiştir.

5. Fosfat tampon solüsyonunda 2-3 dakika tutularak yıkanmıştır.

6. % 3'lük H₂O₂ damlatılarak 20 dakika bekletilmiştir.

7. Tekrar fosfat tampon solüsyonunda 5 dakika tutularak yıkanmıştır.

8. Artık protein blok dökülerek kenarları silinmiş ve iNOS (Rabbit polyclonal antibody ready to use RB-1605-R7, Lab- Vision, USA) damlatılarak bir gece bekletilmiştir.

9. Tekrar fosfat tampon solüsyonda 2-3 dakika tutularak, yıkanmıştır.

10. Lab Vision anti-mouse HRP (Ready-to-use) Biotinylated goat anti-mouse (Lab Vision TM-060-HL) damlatılarak 20 dakika beklenmiştir.

11. Tekrar fosfat tampon solüsyonda 2-3 dakika tutularak yıkanmıştır.

12. Kesitlerin kenarı silinerek Sterp Avidin Peroxidase (Lab Vision TM-060-HL) damlatılarak, 20 dakika beklenmiştir.

13. Tekrar fosfat tampon solüsyonda 2-3 dakika tutularak yıkanmıştır.

14. Kesitlerin kenarı silinerek AEC (Substrat chromogene Ready to Use, K3469, DAKO, Denmark) damlatılarak, doku fiksasyonu sağlanmıştır.

¹ Human iNOS (aa 781-798) MAb (2D2-b2)

15. Distile su ile yıkanmıştır.

16. Mayer Hematoksilen ile 1-2 dakika zemin boyaması yapılarak, musluk suyunda 2-5 dakika yıkanarak mavileştirilmiştir.

17. Son aşamada kesitler gliserin jel ile kapatılarak, incelemeye hazır hale getirilmiştir.

3.4.2 İNOS İmmünohistokimyasal Boyamasının Değerlendirmesi

Enflamatuvar hücresel elemanlarının (lenfosit, plazma veya nötrofil lökositler) infiltrasyon miktarı 0-3 sınıf değerleri ile gruplar derecelendirilmiştir. Bu sınıflamaya göre;

0 (yok): Doku örneğinde lenfosit, plazma veya nötrofil lökositler mevcut değildir,

1 (hafif): Doku örneğinde lenfosit, plazma veya nötrofil lökositler infiltrasyonu <%25.

2 (orta): Doku örneğinde lenfosit, plazma veya nötrofil lökositler infiltrasyonu %25-50.

3 (diffüz): Doku örneğinde lenfosit, plazma veya nötrofil lökositler infiltrasyonu >%50.

Enflamatuvar hücresel elemanların (lenfosit, plazma veya nötrofil lökositler) iNOS boyanma miktarı 0-3 sınıf değerleri ile gruplar derecelendirilmiştir. Bu sınıflamaya göre;

0 (yok): Doku örneğindeki enflamatuvar hücrelerin iNOS ile boyanması mevcut değil (0-1)

1 (hafif): Doku örneğindeki enflamatuvar hücrelerin %2-20'sinin iNOS ile boyanması

2 (orta): Doku örneğindeki enflamatuvar hücrelerin %21-50'sinin iNOS ile boyanması

3 (şiddetli): Doku örneğindeki enflamatuvar hücrelerin >%50'sinin iNOS ile boyanması

Enflamatuar hücresel elemanların (lenfosit, plazma veya nötrofil lökositler) iNOS stoplazmal boyanma yoğunluğu 0-2 sınıf değerleri ile gruplar derecelendirilmiştir. Bu sınıflamaya göre;

0 (yok): Doku örneğinde enflamatuar hücrelerin iNOS ile boyanması mevcut değil,

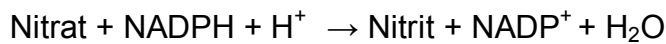
1 (zayıf): Doku örneğinde enflamatuar hücrelerin iNOS ile boyanma yoğunluğu zayıf

2 (güçlü): Doku örneğinde enflamatuar hücrelerin iNOS ile boyanma yoğunluğu güçlü

3.5. DOS NO Miktarının Belirlenmesi

NO miktarı, karmaşık elektrokimyasal ve kemilüminesans gibi yöntemler ile direkt olarak ölçülebilmektedir fakat bu çalışmada daha hızlı ve güvenilir bir yöntem olan NO metabolizmasının son ürünlerini değerlendiren Griess Reaksiyonu¹ ile kullanılmıştır. Bu reaksiyon, nitrit iyonlarına (NO⁻²) duyarlıdır ve in vivo nitratın (NO⁻³) nitrite indirgenmesi ile NO'nin gerçeğe yakın miktarının ölçümüne olanak sağlamaktadır.

Bu indirgenme laboratuarda protein inhibitörleri Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfatın, nitrat redüktaz enziminin varlığında (NADPH), sağlanmıştır. Oluşan nitrit sülfanilamid ve N-(1-naftil)-etilen-diamin dihidroklorit ile reaksiyona girerek kırmızı-mor renkte boyanma gösterir.



Nitrit + sülfanilamid + N-(1-naftil)-etilen-diamin dihidroklorit → diyazo boyanma

Biyokimyasal analiz kitinde, volümetrik ölçümü yapılan nitritin hassasiyet sınırı 0.02 mg/L'dir ve çalışma örneklerinin tümü bu değerin üstündedir. Ölçülen

¹ NİTRİT/NİRAT Colorimetric method, Roche Diagnostics GmbH, 68298 Mannheim München

en küçük nitrit değeri 0.71 mg/L'dir ve bu testin hassasiyet değerinden 35,5 oranında yüksektir. $(0,71/0,02=35,5)$.

Diyazo boyanma, 540 nm (Hg 546 nm) dalga boyundaki soğurganlığın ölçümü ile gerçekleşir. Örneklerdeki nitrit ve nitrat konsantrasyonlarının tayin edilmesi, absorbans ölçümündeki değişikliğin kullanılması ile yapılan kalibrasyondan elde edilir. Sonuç, standart solüsyonlar kullanılarak kalibrasyon eğrisinin oluşturulması ile ölçülür. Kitteki standart solüsyonu Potasyum nitrat üzerinden 1. Stok 500mg/L, 2. Stok 5,0mg/L olarak hazırladıktan sonra bu 5,0mg/L'lik stoktan da 7 adet dilüsyon serisi hazırlayıp (1/2, 1/4, 1/10, 1/20, 1/40, 1/50, 1/100'lük seri dilüsyonlar) örneklerle birlikte çalışılıp çıkan grafik üzerinden okumalarımız değerlendirilmiştir. En son dilüsyondaki 1/100'lük 0,05 mg/L yani 50 mikrogram/L'ye eşittir. Testin hassasiyet sınırı 0,02mg/L yani 20 mikrogram/L olup okuduklarımızın altındadır.

3.6. Kan Örneklerin Alınması

Bireylerden, ağız içi örneklerin alındığı günün, ertesi günü sabah saatlerinde ve aç karnına gelmeleri istenmiştir. Bütün tahliller hastanemizin laboratuvarında yapılmıştır. Açlık glukoz referans aralığı 70.00-110.00 mg/dl, HbA1c referans aralığı ise 3.90-6.10 g/dl olarak değerlendirilmiştir.

3.7. İstatistiksel Değerlendirmeler

İstatistiksel analiz için SPSS 11,5 for Windows paket programı kullanıldı. Çalışmamızda elde edilen veriler grup içi değerlendirmelerde Chi-Square testi, Shapiro Wilk testi kullanılmıştır. Klinik ölçümlerin gruplararası değerlendirilmesi için ANCOVA testi kullanılmıştır. Grup içi inflamasyon değerlerinin skorlanması için kruksal Wallis Varyan analizi kullanılmıştır. Doku parametrelerinin kendi aralarındaki ilişkisi için Spearman's rho testi kullanılmıştır. DOS için Spearman korelasyon testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

DOS ve dişeti doku rneği alınan bütün bireylerin tüm ağız cep derinliği, gingival indeks, plak indeks, klinik ataçman seviyesi ve sondalamada kanama ölçümleri tedavi öncesinde olmak üzere bir kere yapıldı. DOS örneklerine ait NO miktarı Griess reaksiyonu ile belirlendi. Dişeti dokularında iNOS varlığı immünohistokimyasal olarak enflamatuar hücrelerde derecelendirildi. Klinik ve laboratuvar bulgularının grup içi ve gruplararası karşılaştırılması yapıldı.

4.1 Bireylerde Cinsiyet Dağılımı

Çalışmaya 20-60 yaş aralığında 42 erkek ve 38 kadın olmak üzere toplam 80 birey dahil edilmiştir. Gruplar arasında cinsiyet dağılımları Chi-Square testi kullanılarak karşılaştırılmış ve anlamlı bir fark bulunamamıştır($p>0,05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Gruplar arası cinsiyet dağılımlarının karşılaştırılması

GRUPLAR	Erkek		Kadın		Toplam
	N	(%)	N	(%)	N
Grup I (DM+KP)	12	60	8	40	20
Grup II (KP)	12	60	8	40	20
Grup III (DM)	10	50	10	50	20
Grup IV (Kontrol)	8	40	12	60	20

DM:Diabetes Mellitus KP:Kronik Periodontitis

4.2. Klinik Parametreler

Grup I 35 ile 60 yaş aralığında, yaş ortalamaları $52,1\pm6,9$ 'dir. Grup II 35 ile 60 yaş aralığında, yaş ortalamaları $43,1\pm8,9$ 'dir. Grup III 40 ile 60 yaş aralığında, yaş ortalamaları $50,9\pm6,3$ 'dir. Grup IV 21 ile 57 yaş aralığında, yaş ortalamaları $29,8\pm9,2$ 'dir. Her grup 20 bireyden oluşmuştur. Gruplar arası yaş dağılımlarına bakıldığında kontrol grubunun yaş ortalaması diğer gruplara

oranla anlamlı derecede düşüktür ($p<0.05$). Grup I ve II'nin cep derinliği ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık olmamasına rağmen Grup III'e oranla anlamlı derecede yüksektir ($p<0,001$). Dolayısıyla Grup III'ün klinik ataçman kaybı Grup I ve II'ye göre anlamlı derecede düşüktür ($p<0,001$). Grup III'ün gingival indeks oranı grup II'ye oranla anlamlı derecede düşüktür ($p<0,001$), ancak kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Grup I ve II'nin sondalamada kanama değeri grup III'e göre anlamlı derecede yüksektir ($p<0,001$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Gruplararası klinik parametrelerin karşılaştırılması

	Grup I (DM+KP)	Grup II (KP)	Grup III (DM)	Grup IV (Kontrol)
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS
Yaş	52,1±6,9	43,1±8,9 ab*	50,9±6,3	29,8±9,2 abc*
Cep Derinliği	4,22±0,47 d***	4,29±0,61	1,87±0,23 bc***	1,74±0,44
Gingival İndeks	1,54±0,21 d***	1,70±0,32 d**	0,51±0,23 d*,dc***	0,34±0,29 a*
Plak indeks	1,75±0,38 d***	1,75±0,34 d***	0,75±0,32 bc***	0,66±0,40
Klinik Ataçman Seviyesi	6,05±1,05	5,93±1,35	2,57±0,5 bc***	1,79±0,01
Dişeti Çekilmesi	1,83±0,75 d***	1,63±0,99	0,72±0,39 b***, c**	0,04±0,09 *
Sondalamada Kanama	49,58±9,04 e***	61,3±21,9	4,35±3,57 c***	0,05±0,03

DM:Diabetes Mellitus * $p<0,05$

KP:Kronik Periodontitis ** $p<0,01$

*** $p<0,001$

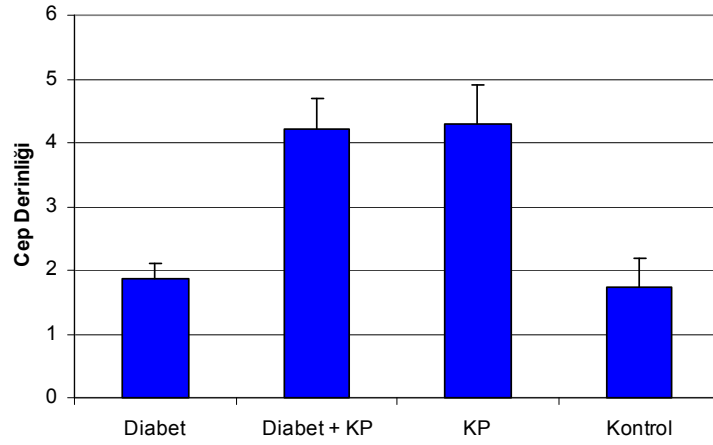
a: diyabet grubuna göre anlamlı derecede düşük

b: diyabet + KP grubuna göre anlamlı derecede düşük

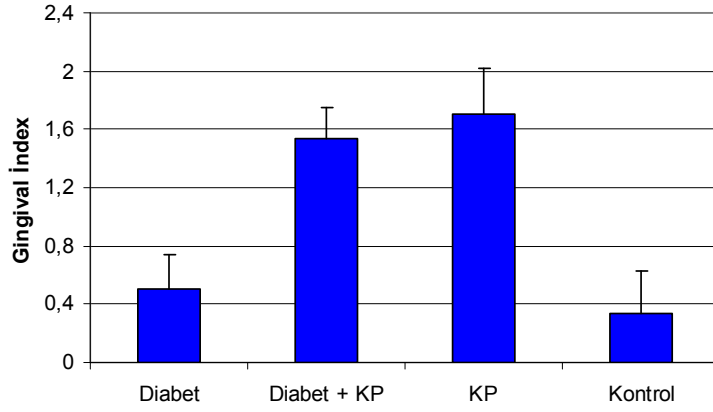
c: KP grubuna göre anlamlı derecede düşük

d: Kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek

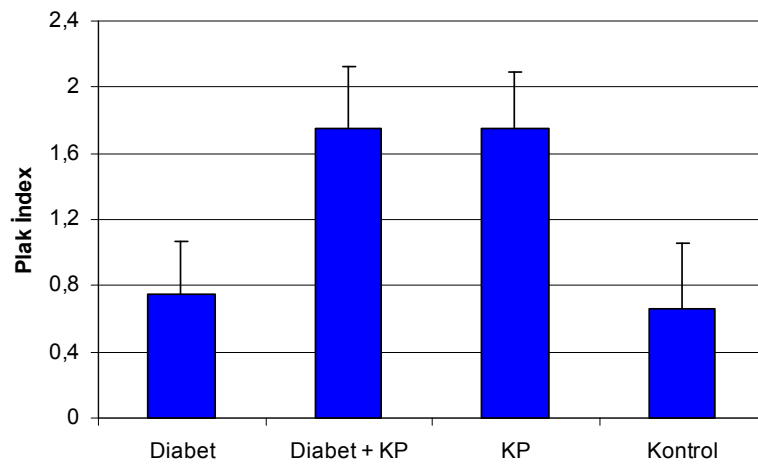
e: Diyabet grubuna göre anlamlı derecede yük



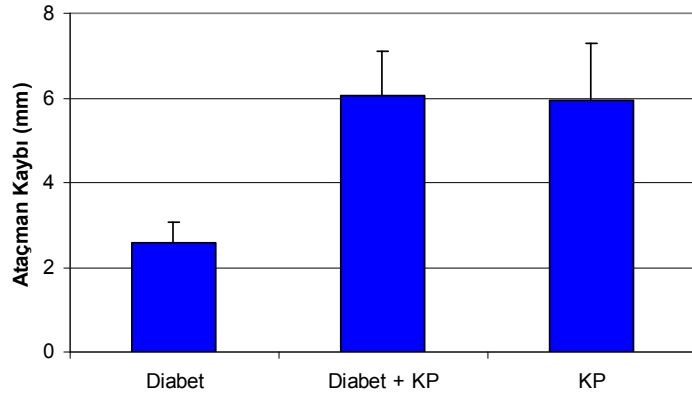
Şekil 4.1. Gruplararası cep derinliği değerleri (milimetre)



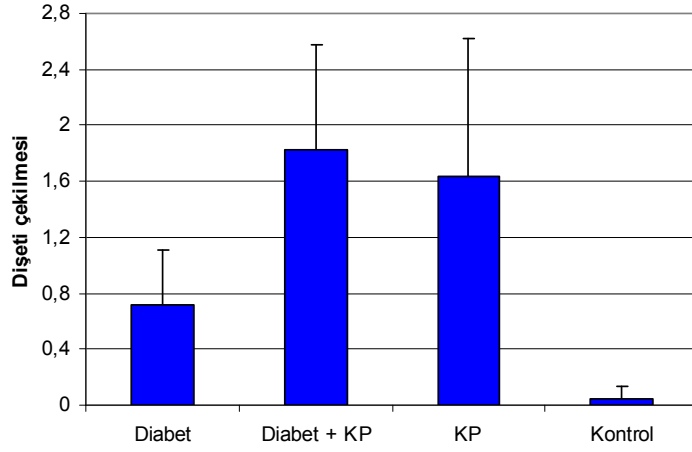
Şekil 4.2. Gruplararası gingival indeks parametreleri (Löe & Sillness)



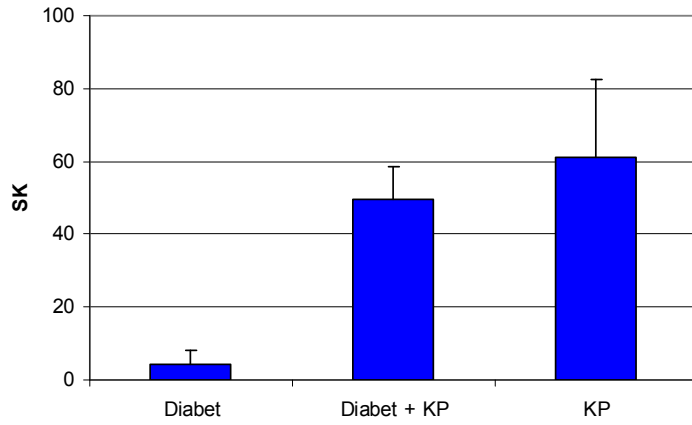
Şekil 4.3. Gruplararası plak indeks parametreleri (Sillness & Löe)



Şekil 4.4. Gruplararası klinik ataçman kaybı değerleri (milimetre)



Şekil 4.5. Gruplararası dişeti çekilmesi değerleri (milimetre)



Şekil 4.6. Gruplararası sondalamada kanama değerleri (%)

4.3 Açlık Glukoz ve HbA1c Değerlerinin Gruplararası Karşılaştırılması

Tablo 4.3 Gruplararası açlık glukoz ve HbA1c değerlerinin karşılaştırılması

	Grup I (DM+KP)	Grup II (KP)	Grup III (DM)	Grup IV (Kontrol)
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS
Açlık Glukoz	148,3 ± 41,1 d**	87,2 ± 7,9 ab***	136,2 ± 34,5 d*	87,8 ± 7,3
HbA1c	7,5 ± 1,1 d***	4,9 ± 0,7 ab***	6,9 ± 1,2 d**	5,0 ± 0,6

DM:Diabetes Mellitus

KP:Kronik Periodontitis

* p<0,05

a: diyabet grubuna göre anlamlı derecede düşük

** p<0,01

b: diyabet + KP grubuna göre anlamlı derecede düşük

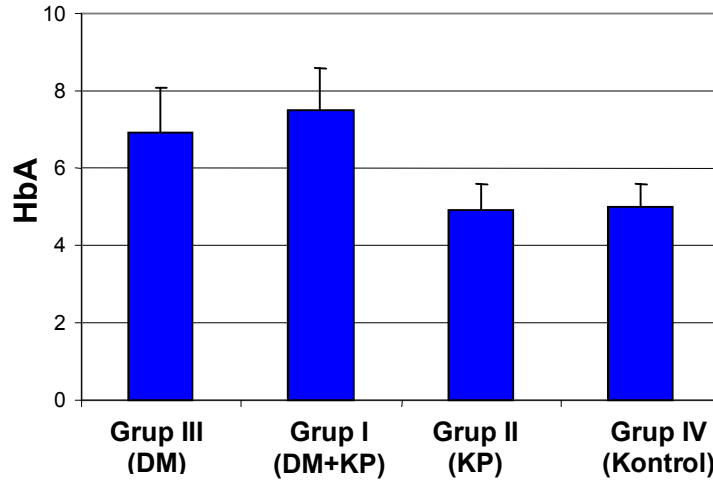
*** p<0,001

c: KP grubuna göre anlamlı derecede düşük

d: Kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek

e: Diyabet grubuna göre anlamlı derecede yüksek

Tablo 4.3'e bakıldığında diyabetin açlık glukoz ve HbA1c üzerine etkisini direkt olarak görebilmek mümkündür. Grup I ve III arasındaki bu iki değer karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık ortaya çıkmazken, Grup II ve grup IV ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttur. Grup II'nin HbA1c ve açlık glukoz değerlerinin ortalaması grup I ve III'e göre anlamlı derecede düşüktür (p<0.001) (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Gruplararası HbA1c değerleri (g/dl)

4.4. Gruplararası NO Boyanma ve Enflamasyon Değerlerinin Karşılaştırılması

Tablo 4.4. Gruplararası immunohistokimyasal bulguların karşılaştırılması

	Grup I (DM+KP)		Grup II (KP)		Grup III (DM)		Grup IV (Kontrol)	
	Ort±SS	Ortanca	Ort±SS	Ortanca	Ort±SS	Ortanca	Ort±SS	Ortanca
INFLAMASYON	3,06±1,1 e**	3(1-3)	2,85±1,3 4 e**	3(0-3)	1,89±1,4 b**,c*	1,5(0-3)	0,70±1,0 3 a**,bc***	0(0-3)
Inf Huc Sayı (inoshora)	2,41±0,8 d***	3(1-3)	1,75±1,0 2 bd***	2(0-3)	1,56±1,2 b*,d***	1,5(0-3)	0,45±0,6 1	0(0-2)
Inf Boy yoğ (inosbyog)	1,71±0,5 d***,e*	2(1-2)	1,7±0,66 d***	2(0-2)	1,17±0,9 d**	1(0-2)	0,5±0,69	0(0-2)

* p<0,05

** p<0,01

*** p<0,001

a: Diyabet grubuna göre anlamlı derecede düşük

b: Diyabet + KP grubuna göre anlamlı derecede düşük

c: KP grubuna göre anlamlı derecede düşük

d: Kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek

e: Diyabet grubuna göre anlamlı derecede yüksek

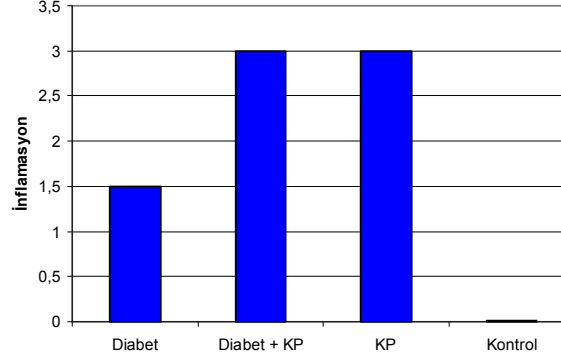
inoshora: mevcut inflamasyon içerisinde inos pozitif boyanan hücre oranı

inosbyog: inos pozitif inflamatuvar hücrelerde boyanma şiddeti.

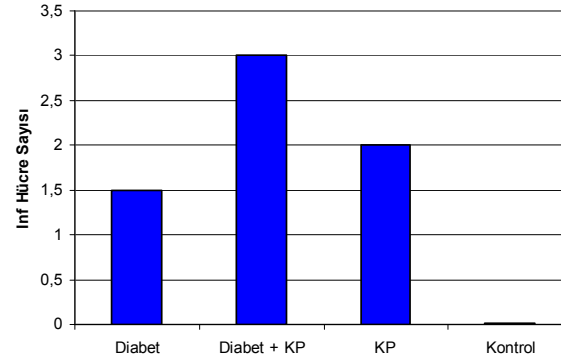
Alınan doku örneklerinin inflamatuvar cevabın şiddeti incelendiğinde, Grup I ve II'de Grup III'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,01). Bu değerler yine kontrol grubundan anlamlı derecede yüksektir. Kronik periodontitisi olmayan Grup III hastalarının, kontrol grubu ile arasında yapılan karşılaştırmada; Grup III'ün inflamasyon şiddetinin Grup IV'e oranla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (p<0,01) (Şekil 4.8).

Mevcut inflamasyon içerisinde iNOS pozitif boyanan hücrelere bakıldığında Grup I, II ve III'ün kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek iNOS boyanma gösterdiği bulunmuştur (p<0,001). Grup I ile III karşılaştırıldığında, yalnızca diyabeti olan Grup III hastalarında mevcut inflamasyon içerisinde iNOS boyanan hücre oranı Grup I'e göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur (p<0,05). En fazla iNOS pozitif boyanan hücre Grup I'e aittir (Şekil 4.9).

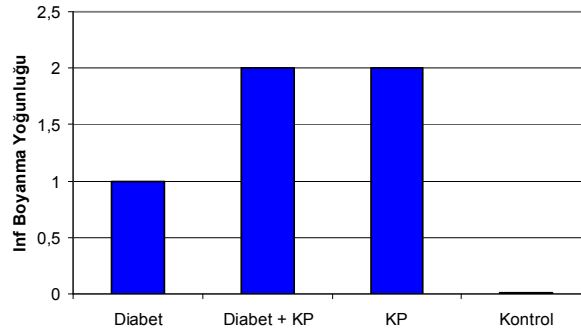
iNOS pozitif inflammatuar hücrelerde boyanma şiddetine bakıldığında Grup I, Grup II ve Grup III'ün boyanma şiddeti kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksektir. Grup I'deki boyanma şiddeti ise Grup III'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$) (Şekil 4.10).



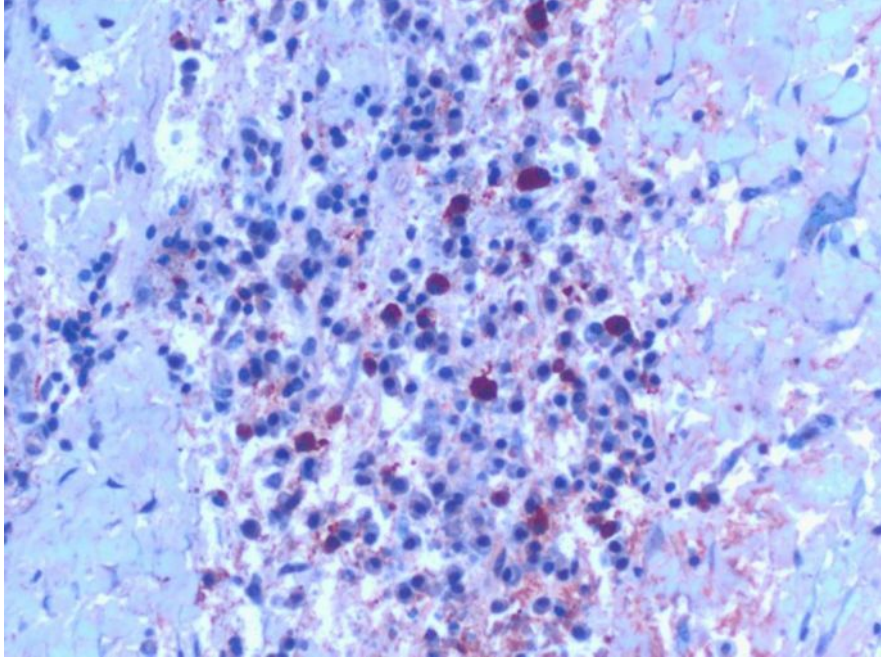
Şekil 4.8. Gruplararası inflamasyon derecesi



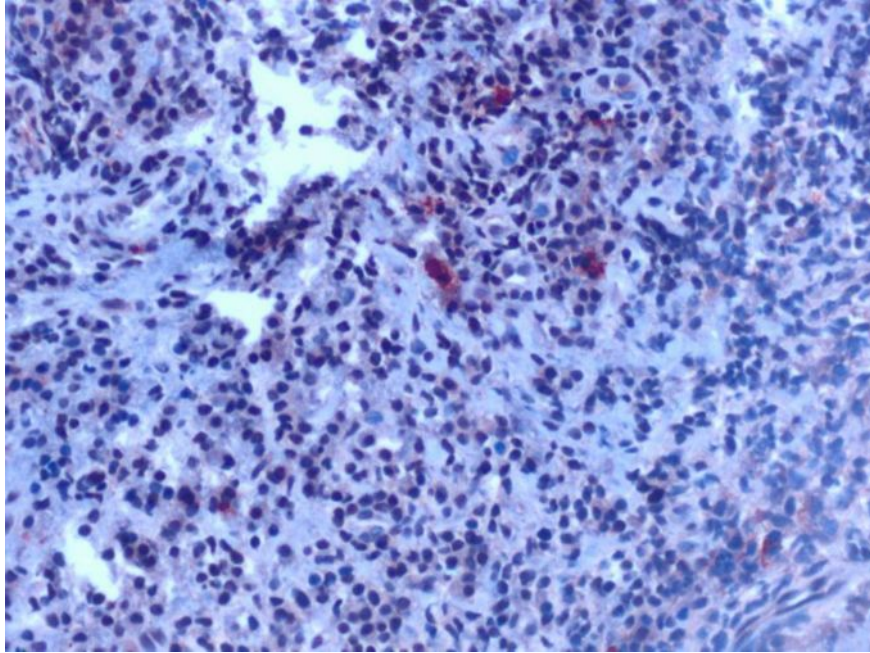
Şekil 4.9 Gruplararası iNOS pozitif boyanan enflamatuar hücre oranı



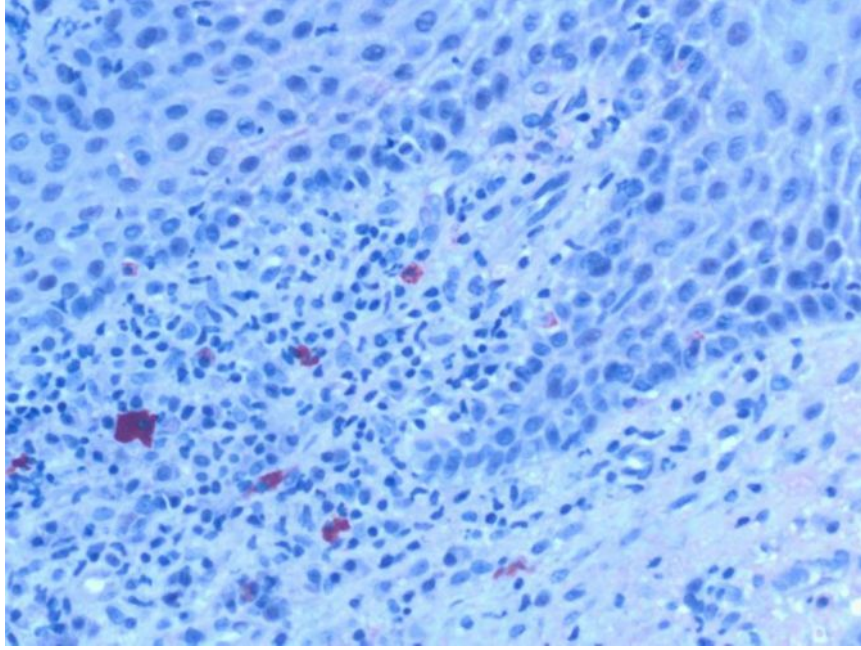
Şekil 4.10 Gruplararası iNOS pozitif enflamatuar hücrelerde boyanma yoğunluğu



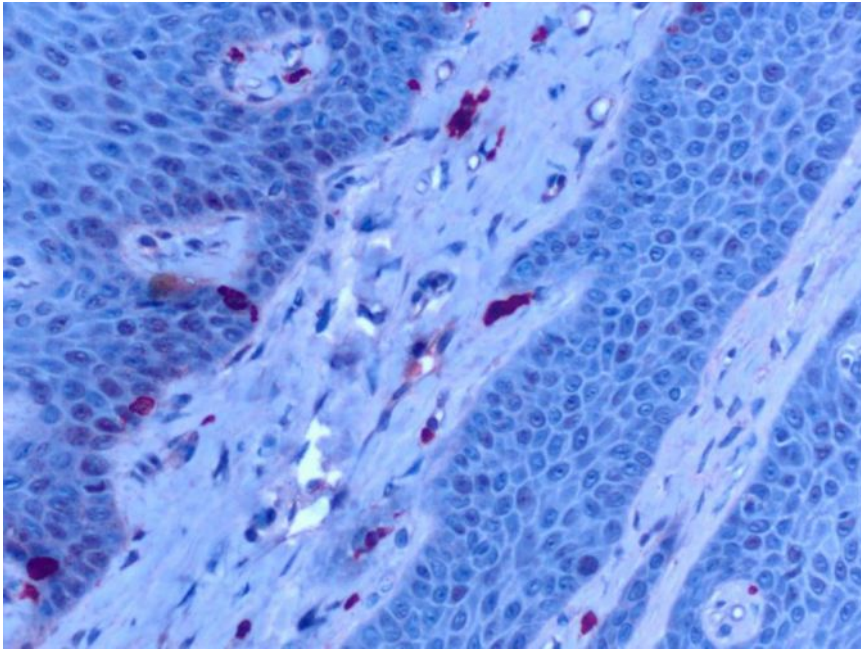
Şekil 4.11. Aktive olmuş mononükleer inflamatuvar hücre elemanlarında kuvvetli stoplazmik iNOS boyanma oranı ve güçlü boyanma yoğunluğu (KP+DM, Grup I)



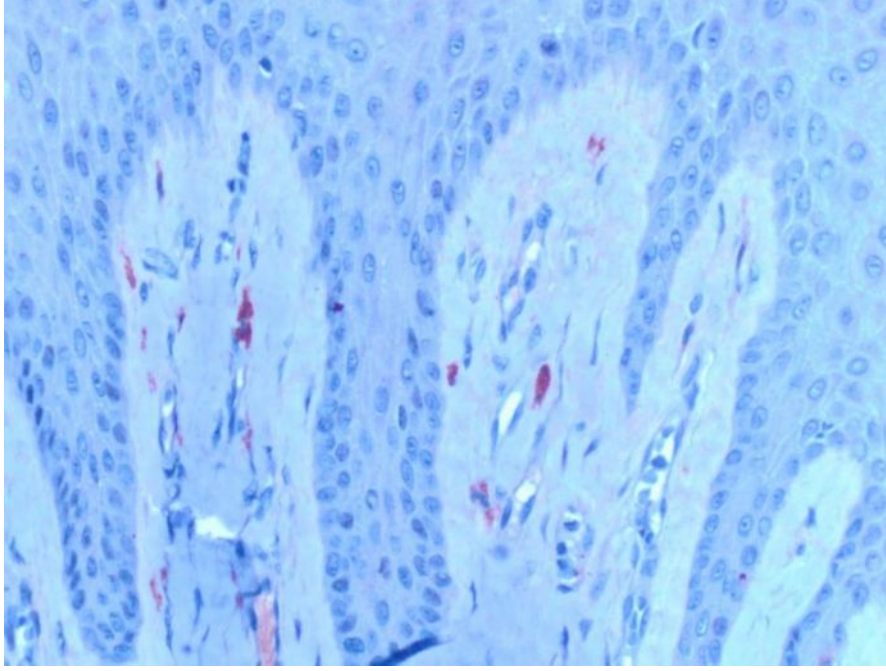
Şekil 4.12. Stromada düffüz enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve güçlü stoplazmik iNOS boyanması (KP+DM, Grup I)



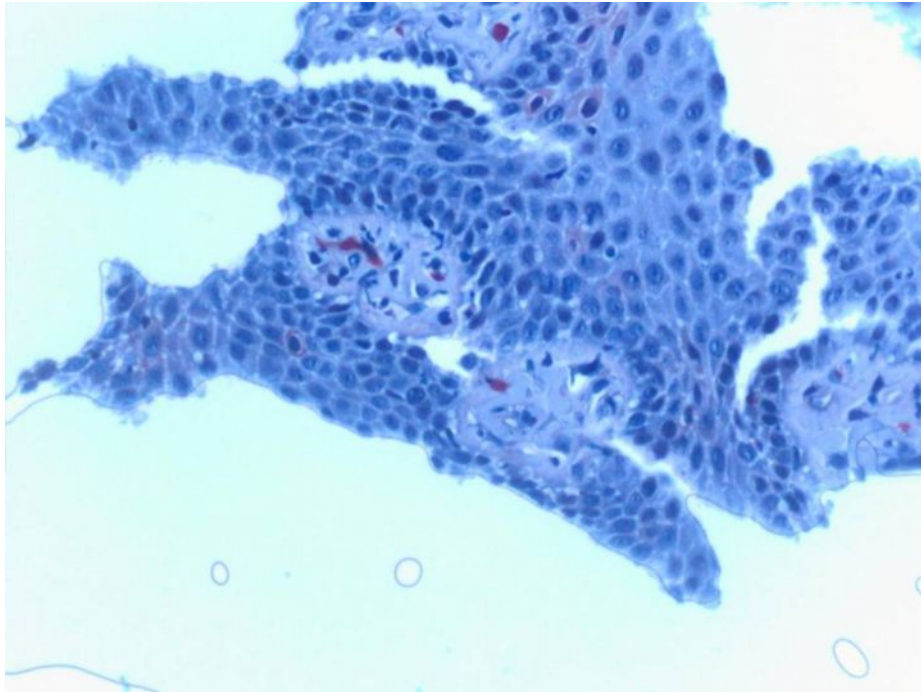
Şekil 4.13. Hiperplazik epitelyum altında stromada diffüz inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve hafif stoplazmik iNOS boyanma (KP, Grup II)



Şekil 4.14 Hiperplazik epitelyum altında hafif derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu, orta dereceli iNOS pozitif boyanma oranı ve güçlü iNOS boyanma yoğunluğu (DM, Grup III).



Şekil 4.15 Hiperplazik epitelyum altında hafif derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hafif dereceli iNOS pozitif boyanma oranı ve zayıf iNOS boyanma yoğunluğu (DM, Grup III).



Şekil 4.16 Bağ dokuda az sayıda inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmekte ve hafif düzeyde iNOS boyanma görülmektedir (Kontrol grubu, Grup IV).

Tablo 4.5. İmmunohistokimyasal bulguların grupçi ilişkisinin incelenmesi

		İNFLAMAS	İNOSHORA	İNOSBYOG
Grup I (DM+KP)	İNFLAMASYON	1.000	.556(*)	.370
	İNOSHORA	.556(*)	1.000	.104
	İNOSBYOG	.370	.104	1.000
Grup II (KP)	İNFLAMASYON	1.000	.361	.626(**)
	İNOSHORA	.361	1.000	.628(**)
	İNOSBYOG	.626(**)	.628(**)	1.000
Grup III (DM)	İNFLAMAS	1.000	.896(**)	.938(**)
	İNOSHORA	.896(**)	1.000	.902(**)
	İNOSBYOG	.938(**)	.902(**)	1.000
Grup IV (Kontrol)	İNFLAMASYON	1.000	.808(**)	.808(**)

* Korelasyon değeri 0,05 seviyesinde anlamlıdır.

** Korelasyon 0,001 seviyesinde anlamlıdır.

inoshora: mevcut inflamasyon içerisinde inos pozitif boyanan hücre oranı

inosbyog: inos pozitif inflamatuvar hücrelerde boyanma şiddeti.

Grup I'de inflamasyon ile boyanan hücre sayısı arasında pozitif yönlü ilişki vardır ($p < 0,05$). İnflamasyon ile boyanan hücre yoğunluğu arasında ilişki yoktur ($p > 0,05$). Boyanan hücre sayısı ile boyanan hücre yoğunluğu arasında ilişki yoktur ($p > 0,05$). Grup II'de inflamasyon ile boyanan hücre sayısı arasında ilişki yoktur ($p > 0,05$). İnflamasyon ile boyanan hücre yoğunluğu arasında pozitif yönlü ilişki vardır ($p < 0,01$). Boyanan hücre sayısı ile boyanan hücre yoğunluğu arasında pozitif yönlü ilişki vardır ($p < 0,01$). Grup III'de inflamasyon ile boyanan hücre sayısı arasında pozitif yönlü ilişki vardır ($p < 0,001$). İnflamasyon ile boyanan hücre yoğunluğu arasında pozitif yönlü ilişki vardır ($p < 0,001$). Boyanan hücre sayısı ile boyanan hücre yoğunluğu arasında pozitif yönlü ilişki vardır ($p < 0,001$). Grup IV'de inflamasyon ile boyanan hücre sayısı arasında pozitif yönlü ilişki vardır ($p < 0,001$). İnflamasyon ile boyanan hücre yoğunluğu arasında pozitif yönlü ilişki vardır ($p < 0,001$). Boyanan

hücre sayısı ile boyanan hücre yoğunluğu arasında pozitif yönlü ilişki vardır ($p<0,001$) (Tablo 4.5).

4.5 DOS Parametrelerinin Karşılaştırılması

DOS hacmi, NO konsantrasyonu ve NO total miktarı grup içi ve gruplararası değerlendirildi. Dişeti oluğu sıvısı NO miktarlarının grup içi değerlendirmesinde anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. Sonuç ve miktar değerleri arasında ilişki yoktur ($p>0,05$). Ancak, gruplararası DOS NO miktarlarının değerlendirilmesinde sonuçlar anlamlı olarak görülmüştür (Tablo 4.7).

Tablo 4.6. Gruplararası DOS NO değerlerinin karşılaştırılması

Çalışma Grubu	NO total miktarı	NO konsantrasyonu
Grup I (DM+KP)	57,63±55,86 cd***	50,03±52,09 e** c** d***
Grup II (KP)	69,48±58,90 ed***	61,35±62,81 ed***
Grup III (DM)	61,33± 60,07 d***	34,65±35,55 d***
Grup IV (Kontrol grubu)	23,58±21,98	15,98±16,78

* $p<0,05$

a: diyabet grubuna göre anlamlı derecede düşük

** $p<0,01$

b: diyabet + KP grubuna göre anlamlı derecede düşük

*** $p<0,001$

c: KP grubuna göre anlamlı derecede düşük

d: Kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek

e: Diyabet grubuna göre anlamlı derecede yüksek

Griees reaksiyonu sonucunda elde edilen sonuçlar DOS'un total NO konsantrasyonu olarak kabul edildi ve birim hacimdeki NO miktarı konsantrasyon olarak değerlendirildi. NO total miktarı ve NO konsantrasyonu gruplar arası karşılaştırıldı.

Her grupta NO konsantrasyon değerleri arasında anlamlı farklılık bulundu ($p<0,001$). En yüksek NO konsantrasyonu, Grup II'de gözlenirken; hem diyabeti hem de kronik periodontitisi bulunan Grup I bireylerinin DOS NO konsantrasyonu Grup II'ye göre anlamlı derecede düşük olduğu görüldü. Grup I,

II ve III'ün DOS NO konsantrasyonları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

DOS içerisindeki NO'nun total miktarlarına bakıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). En yüksek NO total miktarı, Grup II'yi oluşturan kronik periodontitisli bireylerdir ve bu değer Grup I ve III bireyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Grup I, II ve III'ün DOS NO konsantrasyonları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksektir.

4.6. İmmünohistokimyasal Bulgular ve DOS NO Değerleri Arasındaki Korelasyonlar

Tablo 4.7. İNOS boyanma değerleri ile DOS NO miktarlarının korelasyonu

Doku NO \ DOS NO	NO total miktarı	NO konsantrasyonu
İnflamasyon	0,108	0,416**
İnoshora	0,233*	0,390**
İnosbyog	0,047	0,465**

** Korelasyon 0,01 düzeyinde anlamlı

* Korelasyon 0,05 düzeyinde anlamlı

inoshora: mevcut inflamasyon içerisinde inos pozitif boyanan hücre oranı

inosbyog: inos pozitif inflamatuvar hücrelerde boyanma şiddeti.

Gruplar arası İNOS boyanma ve DOS NO değerleri karşılaştırıldığında anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. Tüm çalışma bireylerinde aynı karşılaştırmayı yaptığımızda DOS NO konsantrasyonu ile inflamasyon şiddeti, İNOS boyanan hücre miktarı ve İNOS boyanma yoğunluğu arasında pozitif ilişki olduğu görülmektedir ($p<0,01$). DOS NO total miktarı ile ilişkili görülen tek doku değeri ise İNOS pozitif boyanan hücre miktarıdır ($p<0,05$).

4.7. Klinik parametreler ile İmmunohistokimyasal Bulgular Arasındaki Korelasyonlar

Tablo 4.8. Klinik parametreler ile İmmunohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki

Doku NO Klinik Parametreler	Inflamasyon	Inoshora	Inosbyog
Yas	.362*	.522*	.363*
Ataçman Kaybı	.140	.148	.222
Gingival İndeks	.552*	.439*	.549*
Plak İndeks	.475*	.438*	.503*
Dişeti Çekilmesi	.326*	.378*	.370*
Cep Derinliği	.474*	.433*	.483*
Açlık Glukoz	.247*	.368	.214
HbA1c	.251*	.302*	.233*
SK	.218	.098	.254

* Korelasyon katsayısı $p < 0,05$ 'te anlamlıdır

Tüm bireylerden klinikte elde ettiğimiz parametreler ile immünohistokimyasal bulgulardan elde edilen parametreler karşılaştırıldığında pozitif yönde ilişkili sonuç ortaya çıkmaktadır.

Hastaların yaşı, gingival indeksleri, plak indeksleri, dişeti çekilmesi miktarları, cep derinliği ve HbA1c değerleri ile dokulardaki inflamasyon, mevcut inflamasyon içerisinde iNOS pozitif boyanan inflamatuvar hücre sayısı ve bu hücrelerin iNOS ile boyanma şiddeti arasında pozitif yönlü bir ilişki bulunmuştur.

Açlık Glukoz değerleri ile dokulardaki inflamasyon, mevcut inflamasyon içerisinde iNOS pozitif boyanan inflamatuvar hücre sayısı arasında pozitif yönde ilişki vardır, ancak iNOS boyanma şiddeti arasında bir ilişki görülememiştir.

Sondalamada kanama varlığı ve ataçman kaybı miktarı ile dokulardaki inflamasyon, mevcut inflamasyon içerisinde iNOS pozitif boyanan inflamatuvar hücre sayısı ve bu hücrelerin iNOS ile boyanma şiddeti değerlerinin arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 4.7).

4.8. Klinik Parametreler ile DOS Arasındaki Korelasyon

Tablo 4.9. Klinik parametreler ile DOS arasındaki korelasyon

DOS NO Klinik Parametreler	NO total miktarı	NO konsantrasyonu
Yas	.520*	.247*
AtaçmanKaybi	-.371*	.391*
Gingivalİndeks	-.073	.591*
Plakİndeks	-.045	.467*
DişetiÇekilmesi	.156	.563*
CepDerinliği	-.087	.545*
AçlıkGlukoz	.661*	.069
HbA1c	.597*	.124
SK	-.516*	.393

Korelasyon Katsayısı $p < 0,05$ 'te anlamlıdır

Yaş ve ataçman kaybı ile NO total miktarı ve konsantrasyonu arasında pozitif bir ilişki vardır. Gingival indeks, Plak indeks, dişeti çekilmesi ve cep derinliği ile NO konsantrasyonu arasında pozitif yönde ilişki vardır. Ancak aynı veriler ile NO total miktarı birimi arasında ilişki bulunamamıştır. Açlık glukoz, HbA1c, sondalamada kanama ile NO total miktarı arasında pozitif yönlü ilişki varken, NO konsantrasyonu ile aralarında ilişki bulunamamıştır.

5.TARTIŞMA

Periodontitis, dişi destekleyen dokuların kaybı ile karakterize, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Gram-negatif türler, mobil rodler ve spiroketler gibi patojenler, gingival dokulara hücum edebilme yeteneğine sahiptirler. Bakteriyel florada meydana gelen değişim ve patojenik bakteriler ile konak immün yanıtı arasındaki etkileşim, sitokin salımına ve gingival dokudaki immünolojik aktivitenin artmasına neden olur. Periodonitis, bakterilerin sebep olduğu bir hastalık olmasına rağmen, hastalığa olan yatkınlığı belirleyen en önemli faktör konak savunma mekanizmasıdır (1).

Diyabet, Osteoporoz ve AIDS gibi hastalıklar, hamilelik gibi hormonal değişiklikler, genetik faktörler periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde etkili olan sistemik faktörlerdendir (13, 14, 15, 16, 17, 18). Sistemik faktörlerin bulunması, plak birikimine karşı oluşan konak cevabını modifiye eden bir durumdur. Bu gibi sistemik hastalıklar, doğrudan bakteri ve bakteri ürünlerinin meydana getirdiği direkt doku yıkımlarının yanı sıra, konak dokuda bakteriyel faktörlere karşı oluşan cevabın meydana getirdiği indirekt yıkımı hızlandırır (3, 5, 12). Periodontal hastalıkların fizyopatolojisi ve etyopatolojisine yönelik olarak yapılan çalışmalar günümüzde yerini periodontal hastalıkların patogenezindeki temel mekanizmaların anlaşılmasına bırakmışlardır.

Periodontal hastalık, diyabetin altıncı komplikasyonu olarak kabul edilmektedir (61). Ancak, diyabetin oral kavite üzerindeki rolü hala araştırılmakta ve günümüzde elde ettiğimiz veriler sınırlı sayıdadır. Birçok araştırmacının birleştiği ortak fikir, diyabetin gingivitis ve periodontitis gelişiminde bir risk faktörü oluşturduğu düşüncesidir (44, 130).

Bazı araştırmacılar diyabet ve gingival inflamasyon arasında herhangi bir ilişki bulamazken (131), birçok çalışmada gingivitisin prevalansı ve şiddetinin, diyabet ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Tip II diyabetli hastalardaki gingival

inflamasyonun diyabeti olmayan bireylere göre daha yüksek olduğu ve yüksek inflamasyonun, diyabetin zayıf kontrolü ile kuvvetli ilişkide olduğu bildirilmiştir (95). Uzun dönem deneysel gingivitis çalışmasında (132), plak birikimi ve plak içi bakteri kompozisyonu benzer olmasına karşın, nispeten iyi kontrollü tip I diyabetli hastalarda, diyabeti olmayan bireylere göre gingival inflamasyonun daha hızlı geliştiği ve daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma göstermektedir ki, diyabet her zaman olmamakla birlikte gingival inflamasyonu artırıcı yönde etki edebilmektedir.

Diyabetik yetişkinler üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda periodontitis prevalansında ve şiddetinde artış gözlemlenmiştir (14,133). Geniş çaplı yapılan epidemiyolojik çalışmalar göstermektedir ki, diyabeti olan bireylerde alveoler kemik ve ataçman kaybı, diyabeti olmayan bireylere göre üç kat daha fazladır (14). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan başka bir epidemiyolojik çalışmada (NHANES III), zayıf kontrollü diyabeti olan yetişkinlerin, diyabeti olmayan kontrol grubuna göre 2.9 kat daha fazla periodontitis gelişebilme riski altında oldukları gösterilmiştir. Aynı çalışmada, iyi kontrol altında diyabeti bulunan bireylerin, periodontitis gelişebilme riski altında olmadıkları vurgulanmıştır (64). Glisemik kontrolün diyabetli hastalardaki bakteriyel plağa karşı oluşan gingival cevapta önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür. Glisemik kontrol; diyabet ve periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi gösteren önemli bir veridir. Zayıf glisemik kontrole sahip bireylerde gingival inflamasyon ve periodontal yıkım daha fazla oranda görülmektedir (38, 133, 134). Bizim çalışmamızda, Grup I ve Grup III'teki tip II DM'li bireylerin kan glukoz seviyeleri ve HbA1c düzeyleri referans aralığının üstünde ama kontrol altında olan bireylerden oluşmaktadır.

Diyabetik bireylerdeki artmış plazma glukoz seviyesi, DOS'taki glukoz miktarında da artışa sebep olur (135). Periodontitisi ve diyabeti bulunan bireylerde yapılan bir çalışmada, HbA1c seviyesi >8 olan bireylerde DOS IL-1 β seviyesi, HbA1c seviyesi <8 olan bireylere oranla daha yüksek bulunmuştur (136). Bu durum diyabetli hastalardaki konak defansının bozulmuş olması

sonucunda periodontal inflamasyondaki, ataçman ve kemik kaybındaki artışın göstergesidir. DOS'taki glukoz seviyesinin artması, fibroblastların yara iyileştirme kapasitesini etkileyerek ataçman yapımını engellemekte ve yara iyileşmesini bozmaktadır (76). Çalışmamızda, yalnızca diyabeti bulunan grup III bireylerinde, kan glukoz düzeyleri kontrol altında olmasına rağmen, dişeti dokusunda izlenen inflamasyon, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksektir. Bu bulgulara göre kan glukoz seviyeleri kontrol altında olsa da diyabetin; bireylerde periodontal hastalık için bir risk faktörü olabileceği sonucu çıkmaktadır.

Diyabetin metabolik kontrolü ve periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi kesin olarak tayin etmek oldukça zordur (44). Araştırmalardan elde ettiğimiz bilgilere göre şunu söyleyebilmekteyiz ki; glisemik kontrol ile retinopati, nefropati gibi diyabetin klasik komplikasyonları arasındaki ilişki ile diyabetin periodontitis arasındaki ilişki benzer mekanizmalar içerebilmektedir. Mikrovasküler değişiklikler diyabetin komplikasyonlarının oluşumuna sebebiyet veren temel olaydır. Diyabetin etkilediği periodonsiyumdaki patolojik mekanizmaların birçoğu, diyabetin meydana getirdiği komplikasyonların temelini oluşturan mikrovasküler ve makrovasküler değişiklikler ile benzerdir. Diyabetik anjiyopati sırasında meydana gelen damarsal değişiklikler, damarların rejenerasyonunun bozulması ve anormal büyümesi gibi durumlardır. Retinada, glomerulusta ve diğer organlarda meydana gelen mikrovasküler değişiklikler, periodonsiyum içerisinde de meydana gelebilmektedir (137).

Devamlı olarak hiperglisemisi olan bireylerde, proteinler geriye dönüşümsüz olarak glikolize olur ve ileri glikasyon son ürünlerini (İGSÜ) meydana getirir. Bu stabil karbohidrat bağlı proteinler, hücre-hücre, hücre-matriks etkileşiminde çeşitli etkilere sahiptir ve diyabete bağlı komplikasyonların gelişiminde en önemli etken olarak kabul edilmektedir. İGSÜ kollojen üzerinde etki eder, kollojenin çapraz bağlantılarının artmasına neden olur ve böylelikle yüksek stabil kollojen makromoleküllerinin oluşumuna yol açar. Dokularda enzimlerin işlevini bozar ve damar çeperlerinde kalınlaşma meydana gelir (137).

İGSÜ'nün diyabeti olmayan bireylerle karşılaştırıldığında, diyabeti olan bireylerin periodonsiyumunda daha yüksek oranlarda olduğu tespit edilmiştir (138).

Diyabetik bireylerin periodontal dokularda İGSÜ'nün artması ile DOS'ta IL-1 β , TNF- α ve PGE₂ seviyesinin artış gösterdiği rapor edilmiştir. Özellikle metabolik kontrolü zayıf olan diyabetik bireylerde, bu sitokinlerin seviyesinin artması, periodontal hastalığın daha da şiddetli olmasına sebep olmaktadır. Dokularda İGSÜ'nün artması ile P.gingivalis'e olan cevap ve alveoler kemik kaybı daha fazla artış gösterir (138).

Diyabet, nötrofil adezyonunda, kemotaksisinde ve fagositozunda bozulmaya sebep olabilir ve böylece bakterilerin periodontal cep içerisine yerleşip çoğalmalarını kolaylaştırabilir. Sonuç olarak periodontal yıkımda artış meydana gelebilir (139). Diyabetli bireylerde genellikle nötrofiller hipofonksiyonel bir durumda iken, monosit/makrofajlarda aşırı cevap mevcuttur. Bunun sonucunda da proinflamatuvar sitokinlerin ve mediyatörlerin anlamlı derecede artış gösterdiği izlenmektedir. IL-1 sitokin ailesi ve TNF- α , bakteriyel değişime karşı gelişen inflamatuvar hastalıkta ana rolü oynamaktadırlar. Bu cevap, temel olarak bakteriyel enfeksiyona karşı mücadele sırasında ve organizmayı koruma amacıyla salınan mediyatörlerdir. Ancak, bunların ortama salınmaları halinde doku yıkımları meydana gelebilmektedir. IL-1 β 'nın periodontal inflamasyon içerisinde de önemli bir rolü vardır. Sitokin aktivitesinin uyarılması sonucu PMNL yüksek miktarlarda NO gibi reaktif oksijen türleri de üretirler. Periodontal hastalık sürecinde önemli rolü olan IL-1 β , TNF- α ve IFN- γ gibi proinflamatuvar sitokinler NO salımını uyarmaktadır (140). Bu güne kadar yapılan çalışmalarda NO'nin sitokin aktivasyonu ile birlikte inflamatuvar süreçte doku ve kemik yıkımında rol alabileceği düşünülmektedir (118, 141, 142). NO'nin, kültüre kondrositlerde matriks metalloproteinazları (MMPs) aktive ettiği gösterilmiştir (118, 141, 142). Ayrıca, eklem kondrositlerinde proinflamatuvar sitokin IL-1 β 'nın etkilenmesinde ikincil mesajcı olarak görev yaptığı gösterilmiştir. NOS inhibitörleri kullanıldığında, kollojenazın IL-1 β ile uyarılmış mRNA seviyesinde düşme gösterilmiştir (143).

İmmünopatolojik süreç içerisinde NO'nun rolü kesin olarak bilinmemesine rağmen, bu sürecin sonunda dişi çevreleyen yumuşak ve sert dokuda geriye dönüşümsüz doku yıkımına sebep olduğu bilinmektedir (117). Yapılan bir çalışmada, periodontal hastalığı bulunan inflame dişeti dokusunda L-arjinin ve L-sitrulin konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre artmış olduğu gözlenmiştir (121). Bizim çalışmamızda periodontitisi olan bireylerin dişeti dokusunda iNOS konsantrasyonunun anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir.

NOS tarafından üretilen NO, immünomodülatör, sitotoksik ve antibakteriyel etkilere sahip bir moleküldür. NO'nun bu işlevleri, periodontal dokularda mikropları öldürmenin yanı sıra reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin doku içinde etkileriyle benzer özelliklerdir (144). Yapılan bir çalışmada gösterilmektedir ki, süperoksit seviyesinin NO tarafından düzenlenmesi ile makrofajları ve nötrofillerin fagositik fonksiyonlarını etkilemekte ve böylece *P.gingivalis*'e karşı konak savunması içerisinde önemli bir savunma oluşturmaktadır (145). *P.gingivalis* LPS'leri makrofajlarda NO salımını uyarmakta, NO kemik yıkımında önemli bir molekül olarak işlev görmektedir (145).

Periodontitisli hastaların serumunda inflamasyonun belirleyici molekülleri olan CRP, IL-6 ve fibrinojenin artış gösterdiği izlenmiştir (146). Benzer şekilde, hiperglisemi ile birlikte CRP aktive olur, TNF- α ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimi artar ve oksidatif bir etki oluşur. Böylece, hiperglisemi ile birlikte proinflamatuvar süreç başlamış olur. Bu süreç başladıktan sonra PMN'lerden çok miktarda ROT salımı meydana gelir. Aşırı miktarda üretilen NO, süperoksit ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşumuna sebep olabilir. Peroksinitrit, biyolojik sistemler için önemli bir oksidant olan nitrojen dioksit ve hidroksil radikallerine ayrışır (117). Ayrıca, hiperglisemi ile birlikte gelişen oksidatif stres sonucunda dokularda peroksinitrit birikimi meydana gelir.

DOS, bir serum eksudasyonudur ve içerisindeki inflamatuvar mediyatörlerin serumda artış gösterdiğini izlemek mümkündür. DOS'daki

proinflatuar sitokinlerin artışı diyabetik hastalardaki glisemik kontrolün seviyesini gösterebilmektedir (147). Çalışmamızda, kronik periodontitiste dişeti dokusu içerisinde NO miktarının anlamlı derecede artış gösterdiği ve buna paralel olarak DOS'ta da artmış olduğu izlenmektedir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde NO seviyesinin periodontal inflamasyon ve yıkım ile ilişkilendirilebileceği, ancak diyabetin bunu artırıcı etkisi olmadığı sonucu çıkmaktadır. Çalışmamızda diyabetik bireylerin kan glukoz seviyeleri kontrol altındadır. Bireylerin diyabetik olması periodontal inflamasyona yatkın olabileceği, buna karşın kontrol altında oldukları için NO'nun dokularda daha fazla yıkım yapmadığı yorumu yapılabilir. Böylece diyabetin kontrol altında olmasına bağlı olarak periodontal harabiyetin şiddetlenmesine engel olduğu görüşü ortaya çıkmaktadır. Diyabetin NO salınımı üzerindeki etkisi anlamak için kontrol altında olmayan bireylerde çalışmanın planlanması daha anlamlı sonuçların çıkmasını sağlayabilir.

Dişeti dokusundaki NO miktarı inflamasyon ile birlikte artış gösterdiği bilinmektedir (115, 120, 121, 122, 123, 148). Tip I diyabetli bireylerin hem dokuda hem de DOS içerisindeki NO miktarının değerlendirildiği bir çalışmada (149), glukoz düzeyi kontrol altında olan bireylerin DOS içerisinde ve dokuda NO'ya rastlanmadığı ancak, dişetindeki inflamasyonla birlikte NO miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda da, inflamasyon ile birlikte dokularda iNOS miktarı arttıkça, DOS'da da NO konsantrasyonunda artış gözlenmektedir. DOS NO konsantrasyonları, dokuda var olan iNOS miktarı ile paralellik göstermektedir. Sonuçlar değerlendirildiğinde var olan sistemik hastalığa bağlı olmaksızın inflamatuvar cevaba bağlı olarak NO miktarının arttığı gözlenmektedir.

Çalışmamızda kronik periodontitisi olmayan tip II diyabetli hastaların dişeti dokusunda, kontrol grubuna göre daha yüksek miktarda iNOS varlığı gözlenmektedir. Bunun sebebi diyabetin dokularda inflamasyon sürecini uyarması, oksidatif stresin artması ve İGSÜ'nün miktarında artışın NO üretimi üzerindeki etkisi olabileceği ve meydana gelebilecek periodontal harabiyetin

öncüsü olabileceği sonucu çıkabilir. Yani, diyabetik bireylerin periodontal dokulardaki NO üretimi, yalnızca periodontopatojenlerin uyarılması ile değil, diyabetin dokularda yarattığı değişiklikler sebebiyle de meydana gelebilmektedir. Bu süreç sonunda periodontopatojenler, periodontal harabiyeti daha kolay bir şekilde gerçekleştirebilecek ortamı bulabilirler.

Bizim çalışmamızda da Grup I ve Grup II bireylerinin immünohistokimyasal değerlendirmesinde iki grup arasındaki enflamasyon şiddeti açısından anlamlı bir fark bulunmazken hem tip II diyabeti hemde kronik periodontitisi bulunan Grup I bireylerinin dişeti dokusundaki iNOS pozitif boyanan hücre miktarının tüm gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu görmekteyiz. Ancak DOS NO konsantrasyonunda tam tersi olarak Grup I'de Grup II'ye göre daha düşük NO miktarına rastlanmıştır. Her ne kadar çalışmamızda elde edilen bulgular diyabetin NO salınımını artırarak; periodontal yıkım üzerindeki etkisi gösteren tartışmalı sonuçları ortaya çıkarsada; sonuç olarak diyabetin periodontal sağlığın negatif yönde etkileyebileceği, kontrol altında alınmadığında NO salımını uyaran önemli bir sistemik hastalık olduğu ortaya çıkmaktadır. Daha anlamlı sonuçlara varmak için, ileride yapılacak çalışmalarda daha çok sayıda bireyin değerlendirilmesi yanı sıra kontrolsüz diyabetinde göz önüne alınması gerektiğini düşünmekteyiz.

6.SONUÇLAR

DM-KP, KP ve DM grubu hastalarından elde edilen DOS ve dişeti dokusu örneklerinde NO düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırılarak klinik parametrelerle ilişkileri değerlendirildi. Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilere göre;

1. DM-KP ve KP gruplarının klinik verileri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Ancak bu iki grubun klinik verileri DM grubuna göre $p<0,001$ düzeyinde anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. DM grubu ile kontrol grubu arasındaki klinik parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.
2. En yüksek DOS NO konsantrasyonu, KP'li bireylerdedir. DM-KP, DOS NO konsantrasyonu $p<0,01$ seviyesinde KP'ye göre anlamlı derecede düşüktür. DM-KP, KP ve DM gruplarının, DOS NO konsantrasyonları $p<0,001$ seviyesinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksektir.
3. DM-KP, KP ve DM gruplarındaki inflamasyon oranı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak $p<0,01$ seviyesinde anlamlı derecede yüksektir. DM-KP ve KP gruplarının arasındaki inflamasyon değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. DM grubunun inflamasyon şiddeti, kontrol grubuna göre $p<0,01$ seviyesinde daha yüksektir.
4. Mevcut enflamasyon içerisinde iNOS pozitif boyanan hücrelere bakıldığında DM-KP, KP ve DM gruplarının istatistiksel olarak $p<0,001$ seviyesinde, kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksektir. DM grubunun iNOS pozitif boyanan hücre miktarı DM-KP grubuna göre istatistiksel olarak $p<0,05$ seviyesinde daha düşüktür. DM-KP grubunun iNOS pozitif boyanma miktarı KP grubuna göre istatistiksel olarak $p<0,001$ seviyesinde daha yüksektir.

iNOS pozitif olan hücrelerin boyanma yoğunluklarına bakıldığında, DM-KP ve KP gruplarındaki boyanmanın yoğunluğu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak $p<0,001$ seviyesinde kontrol grubuna göre daha yüksektir. DM grubunun iNOS boyanma yoğunluğu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak $p<0,01$ seviyesinde daha yüksektir. DM-KP grubunun boyanma yoğunluğu DM grubuna göre istatistiksel olarak $p<0,05$ seviyesinde daha yüksektir.

7. KAYNAKLAR

1. ARMİTAGE, GC. (1995). Clinical evaluation of periodontal diseases, *Periodontol 2000*. **7**: 39-53.
2. KILIÇ, N., İlerlemiş periodontal hastalığı olan kişilerde periodontal tedavinin dişeti cep sıvısı ve serum aspartat ve amino transferaz enzim aktivite düzeyleri üzerine etkisinin incelenmesi. Doktora tezi, Hacettepe Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1995.
3. MARAKOĞLU, İ., Periodontitisli bireylerde non-steroidal antienflamatuar ilaç (Tenoxicam)'ın dişeti cep sıvısı beta-glukuronidaz ve laktat dehidrogenaz aktivitelerine etkisi. Doktora tezi, Selçuk Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 1996.
4. ARMİTAGE, GC.. (1999). Development of a classification system for periodontal disease and conditions. *Ann Periodontol*. **4**: 1-6.
5. The American Academy of Periodontology. The pathogenesis of periodontal diseases (position paper). *J Periodontol* 1999; 70(4): 32-38.
6. ALBANDAR, JM, TİNOCO EMB. (2002). Global epidemiology of periodontal diseases in children and young persons. *Periodontol 2000*. **29**: 153-176.
7. ATAÖĞLU, T., GÜRSEL, M. (1999). Periodontoloji. 3. baskı, Dmala Ofset, Konya.
8. Position Paper .(2000). Diabetes and Periodontal diseases, *J Periodontol*. **71**: 664-78.
9. KIRAN, M., Tip II diabetes mellitus hastalarında periodontal tedavinin hastalığın metabolik kontrolüne etkisi. Doktora tezi, Ankara Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2002.
10. GÜRSOY, UK., Tip II diyabetli ve obez bireylerin periodontal durumları, nötrofil fonksiyonları ve dişeti oluşu sıvısı laktat dehidrogenaz ve aspartat aminotransferaz aktivitelerinin değerlendirilmesi. Doktora tezi. Cumhuriyet Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas, 2004.
11. CARRANZA, F.A., Glickman's Clinical periodontology. 9th edition, WB Saunders Co, Philedelphia, 1996.

12. ANERUD, K.E., ROBERTSON, P.B., LÖE, H. ANERUD, L.A., BOYSEN, H. M.R. & PATTERS, M.R. (1983). Periodontal disease in three young adult populations, *Journal of Periodontal Research*. **18**: 655-668.
13. TATAKIS, D.N., TROMBELLÌ, L. (2004). Modulation of clinical expression of plaque induced gingivitis. I. Background review and rationale. *J Clin Periodontol*. **31**: 229-238.
14. EMRICH, L.J., SHLOSSMAN, M., GENCO, R.J. (1991). Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol*. **62(2)**: 123-131.
15. REDDY, M.S. (2001). Osteoporosis and periodontitis: discussion, conclusions, and recommendations. *Ann Periodontol*. **6(1)**: 197-208.
16. SOORIYAMOORTHY, M., GOWER, D.B. (1989). Hormonal influences on gingival tissue: relationship to periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. **16**: 201-208.
17. HART, T.C., KORNMAN, K.S. (1997). Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*. **14**: 202-215.
18. LAMSTER, I.B., GRBIC, J.T., BUCKLAN, R.S., MITCHELL-LEWIS, D., REYNOLDS, H.S., ZAMBON, J.J. (1997). Epidemiology and diagnosis of HIV-associated periodontal diseases. *Oral Dis*. **3(Suppl 1)**: 141-148.
19. GONZALES. Y.M., DE NARDIN, A., GROSSI, S.G., MACHTEI, E.E., GENCO, R.J., DE NARDIN, E. (1996). Serum corticosterone levels, smoking, and periodontal attachment loss. *J Dent Res*. **75(2)**: 796-802.
20. NISHIDA, M., GROSSI, S.G., DUNFORD, R.G., HO AW, TREVISAN, M, GENCO, R.J. (2000). Calcium and the risk for periodontal disease. *J Periodontol 2000*. **71(7)**: 1057-1066.
21. VETTORE, M.V., LEO, ATT, MONTEIRO DA SILVA, A.M., QUINTANILHA, R.S., LAMARCA, G.A. (2003). The relationship of stress and anxiety with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. **30**: 394-402.
22. LINDHE, J., KARRING, T., LANG, NP. Clinical periodontology and implant dentistry. Blackwell Munsgaard, a Blackwell Publishing Company (4th Edition) 2003; 198-208.
23. WILLIAMS, R.C. (1990). Periodontal Diseases. *N Engl J Med*. **322**: 373-381.

24. HAFFAJEE, A.D., SOCRANSKY, SS.(1994). Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000*. **5**: 78-111.
25. PAGE, R.C., KORNMAN, K.S. (1997). The patogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*. **14**: 179-183.
26. ÖZMERİC, N. (2004). Advences in periodontal disease markers. *Clinica Chimica Acta*. **343**: 1-16
27. ÇANAKÇI, C.F., ÇİÇEK, Y., ÇANAKÇI, V. (2005). Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochemistry (mosc)*. **70(6)**: 619-28.
28. BATTİNO, D.N., BULLON, P., WILSON, M., NEWMAN, H. (1999). Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med*. **10(4)**: 458-76.
29. RİCHTER, C. (1998). Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging? *FEBS Lett*. **241(1-2)**: 1-5.
30. HASSELBAİNK, D.M., GLATZ, J.F.C., LUIKEN, J.J.F.P., ROEMEN, T.H.M., VUSSE, G.J.V. (2003). Ketone bodies distrub fatty acid handling in isolated cerdiomyocytes derived from control and diyabetic rats. *Biochem J*. **371**: 753-760.
31. AKSOY, T. (2003). Karbonhidrat metabolizması, diabetes Mellitus. *İstanbul, Alemdar Ofset, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları*. **21**: 121-125.
32. RİMM, E.B., CHAN, J., STAMPHER, J.M., COLRİTZ, G.A., WİLLETT, C.W. n(1995). Prospective study of cigarette smoking, alcohol use, and the risc of diabetes in men. *B.M.J*. **310**: 555-59.
33. MANDRUP-POULSEN, T. (1998). Recent advences Diabetes. *BMJ*. **316**: 1221-1225.
34. WİLD, S., ROGLİC, G., GREEN, A., SİCREE, R., KİNG, H. (2004). Global prevalance of diabetes; estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. **27**: 1047-1053.
35. ÖZBAHAR, Y., Diabetes mellitusda HbA1c ve fruktozamin düzeyleri ilişkisi. Uzmanlık tezi, Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Hastanesi I. Dahiliye ve Nefroloji Kliniği, İstanbul, 1993.

36. KARASU, N., ARI, Ç. (2005). Enerji metabolizmasının regülasyonu: Pankreasın rolü, gastroenteropankreatik hormonlar, yağ dokusu hormonları, nöroptitler, diabetes mellitus, antidiyabetik ilaçlar, diyabet/diyabete tedavisinde yeni ajanlar ve potansiyel hedefler. *Türkiye Klinikleri*. **1**: 1-61.
37. YILMAZ, B. (1999). Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. *Feryal Matbaacılık*. Ankara.
38. SAFKAN, B., Seppala. Periodontal disease in insülin-dependet diabetics. Academic dissertation. Department of Oral Medicine Universty of Helsinki, Finland. 2001.
39. ONAT, T., EMERK, K., SÖZMEN, E.Y., İnsan biyokimyası. Palme Yayıncılık. 2002, Ankara.
40. HALLENBECK, C., REAVEN, G.M. (1987). Variations in insilin stimulated glucose uptake in healthy individuals eith normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*. **64**: 1169-73.
41. FERRARİNİ, E., BUZZİGOLİ, G., BONADONNA, R. (1987). İnsulin rezistance in essential hypertension. *N Engl J Med*. **317**: 350-57.
42. HOTAMIŞLIGİL, G.S., ARNER, P., CARO, J.F., ATKINSON, R.L., SPIEGELMAN, B.M. (1995). Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin. Invest*. **95**: 2409-2415.
43. FLİER, J.S. (1992). Syndrome of insulin resistance from patient to gene end back again. *Diabetes*. **42**: 1207-1219.
44. MEALEY, BL., MORITZ, A.J. (2003). Hormonal influences: Effects of diabetes mellitus and endogenous female sex steroid hormones on the periodontium. *Periodontology 2000*, **32**: 59-81.
45. REES, T.D. (2000). Periodontal management of the petient with diabetes mellitus. *Periodontology 2000*. **23**: 63-72.
46. Diabetes and periodontal diseases (2000). Position paper. *J Periodontol*. **71**: 664-678.
47. ZIMME, P., ALBERTI, KGMM., SHAW, J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. **414**: 782-791.

48. CAMPAGNA, F.A., IMPERATORE, G. (2001). Type 2 Diabetes in children. *BMJ*. **322**: 377-78.
49. RODRÍGUES, D.C., TABA, M., NOVAES, AB., SOUZA, S., GRÍSI, M. (2003). Effect of nonsurgical periodontal thrapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol*. **74**: 1361-1367.
50. ÜNÜR, M., ONUR, ÖD., Ağız hastalıklarının teşhis ve tedavisi. Hürok ofset. 2003.
51. MILLER, L.S., MANWELL, M.A., NEWBOLA, D., REDİNG, M.L., RASHEED, A., BLOGETT, J., KOMAN, K.S. (1992). The relationship between reduction in periodontal inflammation and diabetes control. *J Periodontol*. **63**: 843-848.
52. DE FRONZO, R.A., BONADONNA, R.C., FERRARİNİ, E. (1997). Pathogenesis of NIDDM, A Balanced Overview. *Diabetes Care*. Volüme 15.
53. MİSCIAGNA, G., LOGROSCİNO, G., DE MİCHELE, G., CİSTERNİNO, A.M., GUERRA, V., FREUDENHEİM, J.L. (2004), Fructosamin, glycated hemoglobin and dietary carbonhydrates. *Clinica Chimica Acta*; **340**: 139-147.
54. LİNDHE, J., Clinical Periodontology and Implant Dentistry.4th edition. 2003.
55. SAHİLLİ, M., Yetişkin sıçanlarda yeni bir tip deneysel 2 diyabetik model üzerinde çalışmalar; Torasik aortada pioglitazon ile insülin etkileşimi. 2004 Doktora tezi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
56. MANA, S.K., ZHANG, H.J., YAN, T. (1998). overexpression manganase soperoxide dismutase suppresses tumor necrosis factor-induced apoptosis and activation of nuclear transcription factor-B and activated protein-1. *J Biol Chem*. **273**: 13245-13254.
57. ERDOĞAN, B.B., UZASLAN, E. (2005) derleme: diyabet ve Akciğer. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. **31(1)**: 71-74.
58. RAYBER, G.E., Epidemiology of foot ulcers and amputations in the diyabetic foot. 6th edition St. Lois, Missouri. Mosby Inc. 2001;13-32.
59. GREN, F.M., ALİABADİ, Z., GREN, P.T. (2003). Diyabetic foot: Evaluation and management. *South Med J*. **95**: 95-101.
60. CARL-DAVİD, A., STENRAM, U., TORFFVİT, O. (2002). Effects of inhibition of glycation and oxidative stres on the development of diyabetic nephropaty in rats. *Journal of Diabetes Its Complications*.; **16**: 395-400.

- ^{61.} Report of The Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus, 2002. *Diabetes Care.*, **25**: 5-20.
- ^{62.} PAPANOU, P.N. (1996). Periodontal Disease: Epidemiology, *Ann Periodontol.* **1**: 1-36.
- ^{63.} LOE, H. (1993). Periodontal Disease. The sixth complication of DM, *Diabetes Care*, **16**: 329-334.
- ^{64.} TSAI, C., HAYES, C., TAYLOR, G.W. (2002). Glicemik kontrol of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the U.S. adult population. *Community Dent Oral Epidemiol.* **30**: 182-192.
- ^{65.} NAGUIB, G., AL-MASHAT, H., DESTA, T., GRAVES, D. (2004). Diabetes prolongs the inflammatory response to a bacterial stimulus through cytokine dysregulation. *J Invest Dermatol.* **123**: 87-92.
- ^{66.} SCHENCK, K., POPPELSDORF, D., DENIS, C., TOLLEFSEN, T. (1993). Levels of salivary IgA antibodies reactive with bacteria from dental plaque are associated with susceptibility to experimental gingivitis. *J Clin Periodontol.* **20**: 411-417.
- ^{67.} IACOPINO, A.M. (2000). Periodontitis and diabetes interrelationships: Role of inflammation. *Ann Periodontol.* **6**: 125-137.
- ^{68.} LOSCHE, W., KARAPETOW, F., POHL, A., POHL, C., KOCHER, T. (2000). Plasma lipid and blood glucose levels in patients with destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol.* **27**: 537-541.
- ^{69.} FIRATLI, E. (1997). The relationship between clinical periodontal status and insulin-dependent diabetes mellitus. Results after 5 years. *J Periodontol.* **68**: 136-140.
- ^{70.} LIU, R., BAL, H.S., DESTA, T., KROTHAPALLI, N., ALYASSI, M., LUAN, Q., GRAVES, D.T. (2006). Diabetes enhances periodontal bone loss through enhanced resorption and diminished bone formation. *J Dent Res.* **85**: 510-514.
- ^{71.} ALMAS, K., AL-LAZZAM, S., AL-QUADIRI, A. (2003). The effect of oral hygiene instructions on diabetics type 2 male patients with periodontal diseases. *J Contemp Dent Pract.* **4**: 40-51.
- ^{72.} KAWAMURA, M., FUKUDA, S., KAWABATA, K., IWAMOTO, Y. (1998). Comparison of health behaviour and oral/medical Conditions in non-insulin-

dependent (Type II) diabetics and non-diabetics. *Australian Dental Journal*. **45**: 315-320.

⁷³. WESTFELT, E., RYLANDER, H., BLOHME, G., JONASSON, P., LINDHE, J. (1996). The effect of periodontal therapy in diabetics: Results after 5 years. *J Clin Periodontol*. **23**: 92-100.

⁷⁴. TAYLOR, G.W. (1999). Periodontal treatment and its effects on glycemic control: A review of the evidence. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. **87**: 311-316.

⁷⁵. SHIP, J.A. (2003) Diabetes and oral health (An overview), *JADA*. **134**: 4-10.

⁷⁶. IWAMOTO, Y., NISHIMURA, F., NAKAGAWA, M., SUGIMOTO, H., SHIKATA, K., MAKINO, H., FUKUDA, T., TSUJII, T., IWAMOTO, M., MURAYAMA, Y. (2001). The effect of antimicrobial periodontal treatment on circulating tumor necrosis factor-alpha and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol*. **72**: 774-778.

⁷⁷. ALDRIDGE, J.P., LESTER, V., WATTS, T.L.P., COLLINS, A., VIBERTI, G., WILSON, R.F. (1995). Single-blind studies of the effects of improved periodontal health on metabolic control in type 1 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*. **22**: 271-275.

⁷⁸. Uitto, V.J. (2003). Gingival crevice fluid-an introduction. *Periodontol 2000*. **31**: 9-11.

⁷⁹. GOODSON, J.M. (2003). Gingival crevice fluid flow. *Periodontology 2000*. **31**: 43-54.

⁸⁰. Modulation of host response in periodontal therapy, (2002). *J. Periodontol*. **73**: 460-470.

⁸¹. BRILL, N. (1960). Gingival conditions related to flow of tissue fluid into gingival pockets. *Acta Odontol Scand*. **18**: 421-446.

⁸². BRILL, N. (1962). The gingival pocket fluid. Studies of its occurrence, composition, and effect. *Acta Odontol Scand*. **20**: supplement 32.

⁸³. GRIFFITHS, G.S. (2003). Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*. **31**: 32-42.

84. BRILL, N., KRASSE, B. (1959). Effect of mechanical stimulation on flow of tissue fluid through gingival pocket epithelium. *Acta Odontol Scand.* **17**: 115-130.
85. PASHLEY, D.H. (1976). A mecanistic analysis of gingival fluid production. *J Periodontal Res.* **11**: 121-134
86. ALEXANDER, D.C.C., MARTİN, J.C., KING, P.J., POWELL, J.R., CAVES, J., COHEN, M.H. (1999). Interleukin 1 beta, prostoglandin E2, and immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy. *J Periodontol.* **67**: 755-762.
87. JİN, L., SODER, B., CORBET, E.F. (2000). Interleukin-8 and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid in relation to peridontopathogens in untreated adult periodontitis. *J Periodontol.* **71**: 929-939.
88. CIMASONI, G. (1983). Crevicular fluid updated: Monographs in oral science. *Basel, Krager.* **3**: 111-117.
89. BORDEN, S.M., GOLUB, L.M., KLEINBERG, I. (1977). The effect of age and sex on the relationship between crevicular fluid flow and gingival inflammation in humans. *Journal of Periodontal Research.* **12**: 160-165.
90. AKALIN, F.A., TOKLU, E., RENDA, N. (2005). Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Periodontol.* **32**: 238-243.
91. SMITH, A.J., WADE, W., ADDY, M., EMBERY, G. (1997). The relationship between microbial factors and gingival crevicular fluid glycosaminoglycans in human adult periodontitis. *Arch Oral Biol.* **42**: 89-92.
92. WADDINGTON, R.J., EMBERY, G., SAMUELS, R.H. (1994) Characterization of proteoglycan metabolites in human gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *Arch Oral Biol.* **39**: 361-368.
93. HEASMAN, P.A., COLLINS, J.G., OFFENBACHER, S. (1993). Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 β , leukotriene B4, prostoglandin E2, tromboxane B2 and tumor necrosis factor α in experimental gingivitis in humans. *Journal of Periodontal Research.* **28**: 241-247.

- ⁹⁴. GAO, Z., 2003. The anti-oxidant effect of nitric oxide. Iowa University. Free radical and radiation biology program.
- ⁹⁵. STAMLER, J.S., SINGEL, D.J., LOSCALZO, J. (1992). Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science*, **258** (5090): 1898-1902.
- ⁹⁶. KUYUMCU, A., DÜZGÜN, A.P., ÖZMEN, M.M., BESLER, H.T. (2004). Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Dergisi*, (103): 149-159.
- ⁹⁷. MATTHEW, B., JOURD'HEUIL, D., WINK, D. (1999). Nitric oxide I.Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation. *Am.J. Physiol.* **276**: 315-321.
- ⁹⁸. KEICHLE, F., MALINSKI, T. (1993). Nitric oxide: Biochemistry, pathophysiology and detection. *Clin Chem.* **100**: 576-575.
- ⁹⁹. WANG, X.L., WANG, J. (2000). Endothelial nitric oxide synthase gene sequence variations and vascular diseases. *Mol Genet Metab.* **70**: 241-251
- ¹⁰⁰. MONCADA, S., PALMER, M.J., HIGGS, E.A. (1991). Nitric oxide: physiology: pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest.* **43**: 109-119.
- ¹⁰¹. SARKAR, R., VALLANCE, P., HARDING, S.E., (Not just) (2001). A negative inotrope. European Journal of Heart Failure. *Nitric Oxide.* **3**: 527-534.
- ¹⁰². LIEW, F.Y., COX, F.E.G. (1991). Nonspecific defense mechanism: the rol of nitric oxide. *Immunol.* **12**: 17-24.
- ¹⁰³. LOWESTEIN, C.J., GLATT, C.S., BREDET, D.S. (1992). Cloned and expressed macrophage nitric oxide synthase contrast with the brain enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **89**: 6711-6715.
- ¹⁰⁴. COOKE, J.P., TSAO, P.S. (1993). Cytoprotective effects of nitric oxide. *Circulation.* **88**: 2451-2454.
- ¹⁰⁵. PALMER, R., FERRIGE, A., MONCADA, S. (1993). Nitric oxide release accounts forthe biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* **327**: 524-6.
- ¹⁰⁶. GÜRAY, A., SAMANCI, N., OVALI, F., DAĞOĞLU, T. (1997). Nitric oksit fizyolojisi ve klinik önemi. *T Klin J Med Sci.* **17**: 115-119.

107. ARTO, K., AVELA, K., RANTA, V., VIINIKKA, L. (1996). The calcium-dependent nitric oxide production of human vascular endothelial cells in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* **174**: 1056-1060.
108. KHARITONOV, S.A., YATES, D., ROBBINS, R.A., LOGAN-SINCLAIR, R., SHINEBOURNE, E.A., BARNES, P.J. (1994). Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet.* **343**: 133-35.
109. KHATRI, S.B., OZKAN, M., MCCARTHY, K., LASKOESKI, D., HAMEL, J. (2001) Alterations in exhaled gas profile during allergen-induced asthmatic response. *Am J Respir Crit Care Med.* **164**: 1844-8.
110. BLIX, I.J., HELGELAND, K. (1998). LPS from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and production of nitric oxide in murine macrophages J774. *Eur. J. Oral Sci.* **106**: 576-581.
111. SCHENKEIN, H. (1999). The pathogenesis periodontal diseases. *J Periodontol.* **70**: 457-470.
112. WITTE, M., BARBUL, A. (2003). Arginine physiology and its implication for wound healing, *Wound Rep Reg.* **11**: 419-423.
113. WALTERS, J.D., MILLER, T.J., CARIO, A.Ç., BECK, F.M., MARUCHA, P.T. (1995). Polyamines found in gingival fluid inhibit chemotaxis by human polymorphonuclear leukocytes in vitro. *J. Periodontol.* **Apr; 66(4)**: 274-8.
114. SATRIANO, J. (2004). Arginine pathways and the inflammatory response: Interregulation of nitric oxide and polyamines, *Amino Acid.* **26**: 321-329.
115. GÜLLÜ, C., ÖZMERİÇ, N., TOKMAN, B., ELGÜN, S., BALOŞ, K. (2005). Effectiveness of scaling and root planing versus modified Widman flap on nitric oxide synthase and arginase activity in patients with chronic periodontitis, *J.Periodont Res.* **40**; 168-175
116. MARIGGO, M., VINELLA, A., PASQUETTO, N., CURCI, E., CASSANO, A., FUMARULO, R. (2004). In vitro effects of polyamines on polymorphonuclear cell apoptosis and implications in pathogenesis of periodontal disease, *Immunopharmacology and Immunotoxicology.* **26(1)**: 93-101.
117. DAGHIGH, F., BORGHAI, R.C., THOMTON, R.D., BEE, J.H. (2002). Human gingival fibroblasts produce nitric oxide in response to proinflammatory cytokines. *J Periodontol.* **Apr; 73 (4)**: 392-400.

- ¹¹⁸. MURRELL, G.A., JANG, D., WILLIAMS, R.J. (1995). Nitric oxide activates metalloprotease enzymes in articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun.* **Jan 5; 206(1)**: 15-21.
- ¹¹⁹. ÖZMERİÇ, N., ELGÜN, S., URAZ, A. (2000). Salivary arginase in patients with adult periodontitis, *clin Oral Invest.* **4**: 21-24.
- ¹²⁰. LOHINAI, Z., BENEDEK, P., FEHER, E., GYORFI, A., ROSIVALL, L., FAZEKAS, A., SALZMAN, AL., SZABO, C. (1998). Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat. *Br J Pharmacol.* **Feb;123(3)**: 353-60.
- ¹²¹. MATEJKA, M., PARTYKA, L., ULM, C., SOLAR, P., SİNZINGER, H. (1998). Nitric oxide synthesis is increased in periodontal disease. *J Periodontal Res.* **Nov; 33(8)**: 517-8.
- ¹²². LAPPIN, DF., KIEDLSEN, M., SANDER, L., KINANE, D.F. (2000). Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodontal Res.* **Dec; 35(6)**: 369-73.
- ¹²³. BAYNES, J.W., THORPE, S.R. (1999). Role of oxidative stres in diyabetic complications. *Diabetes.* **48**: 1-9.
- ¹²⁴. SÖZMEN, B., DELEN, Y., GİRGİN, F.K., SÖZMEN, E.Y. (1999). Catalase and paraoxonase in hypertensive type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem.* **32**: 423-7.
- ¹²⁵. BECKMAN, J.S., CROW, J.P. (1993). Pathological implications of nitric oxide, superoxide and Peroxynitrite formation. *Biochem Soc Trans.* **21**: 330-4.
- ¹²⁶. CHIOU, S.H., CHANG, C.J., CHOU, C.K., HSU, W.M., LIU J.H., CHIANG C.H. (1999). Increased nitric oxide levels in aqueeous humor of diyabetic patients with neovascular glaucoma. *Diabetes Care.* **22**: 861-2.
- ¹²⁷. BISWAS, S.K., BHELWA, A.P., UPADHYAY, A.U., GEORGE, A., NATH, N. (1993). Status of nitric oxide free radicals in diyabetic neutrophils: effect of diyabetic serum factor on the generation of these species in normal neutrophils and their relation to lysosomal degranulation. *Indian J Biochem Biophysy* **30**: 293-6

128. WU, G. (1995). Nitric oxide synthesis and the effect of aminoguanidine and NG-monomethyl-L-arginine on the onset of diabetes in the spontaneously diabetic BB rat. *Diabetes*. **44**: 360-4.
129. DOGANAY, S., EVEREKLIOGLU, C., ER, H., TURKOZ, Y., SEVİNÇ, A., MEHMET, N., SALVI, H. (2002). Comparison of serum NO, TNF-alpha, IL-1beta, sIL-2R, IL-6 and IL_8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye*. **16**: 2269-2274.
130. PAPAPANOU, PN. (1996) 1996 World workshop in Clinical Periodontics. Periodontal Diseases: epidemiology. *Ann Periodontol*. **1**: 1-36.
131. CIANCIOLA, L., PARK, B., BRUCK, B., MOSOVICH, L., GENCO, R. (1982). Prevalence of periodontal disease in insulin-dependent diabetes mellitus (juvenile diabetes). *J Am Dent Assoc*. **104**: 653-660.
132. SALVI, G.E., KANDYLAKI, M., TROENDLE, A., PERSON, G.R., LANG, N.P. (2005). Experimental gingivitis in type 1 diabetics: A controlled clinical and microbiological study. *J Clin Periodontol*. **32**: 310-316.
133. TERVONEN, T., OLIVER, R. (1993). Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis. *J clin Periodontol*. **20**: 431-435.
134. CAMPUS, G., SALEM, A., UZZAU, S., BALDONI, E., TONOLO, G. (2000). Diabetes and periodontal disease: A case –control study. *J Periodontol*. **27**: 567-571.
135. FICARA, A.J., LEVIN, M.P., GROVER, M.F., KRAMER, G.D. (1975). A comparison of the glucose and protein content of gingival crevicular fluid from diabetics and nondiabetics. *J periodontal Res*. **10**: 171-175.
136. ENGBRETSON, S.P., HEY-HADAVI, J., AHRHARDT, F.J., HSU, D., CELENTI, R.S., GRBIC, J.T., LAMSTER, I.B. (2004). Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1 β and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Periodontol*. **75**: 1203-1208.
137. SEPPALA, B., SORSA, T., AINAMO, J. (1997). Morphometric analysis of cellular and vascular changes in gingival connective tissue in long-term insulin-dependent diabetes. *J Periodontol*. **68**: 1237-1245.
138. SCHMIDT, A.M., WEIDMAN, R., LALLA, E. (1996). Advanced glycation endproducts (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: A potential mechanism

underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J Periodontal Res.* **31**: 508-515.

^{139.} MANOUCHER-POUR, M., SPAGNUOLO, P.J., ROMDAN, H.M., BISSDA, N.F. (1981). Comparison of neutrophil chemotactic response in diabetic patients with mild and severe periodontal disease. *J Periodontol.* **52**: 410-415.

^{140.} PANAYI, G.S. (1993). The immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* **32(Suppl.)**: 4-14.

^{141.} STEFANOVIC-RACIC, M., MORALES, T.I., TAŞKIRAN, D., MCINTYRE, L.A., EVANS, C.H. (1996). The role of nitric oxide in proteoglycan turnover by bovine articular cartilage organ cultures. *J Immunol.* **156**: 1213-1220.

^{142.} TAŞKIRAN, D., STEFANOVIC-RACIC, M., GEORGESCU, H., EVANS, C. (1994). Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1. *Biochem Biophys Res Commun* **200**: 142-148.

^{143.} LO, Y.Y., CONQUER, J.A., GRINSTEIN, S., CRUZ, T.F. (1998). Interleukin-1 β induction of c-fos and collagenase expression in articular chondrocytes: involvement of reactive oxygen species. *J Cell Biochem.* **69**: 19-29.

^{144.} ZAMORA, R., VODOVOTZ, Y., BILLIAR, T.R. (2000). Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases. *Mol Med.* **6**: 347-373.

^{145.} GYURKO, R., BOUSTANY, G., HUANG, P.L., KANTARCI, A., VAN DYKE, E., GENCO, C.A., GIBSON, F.C. (2003). Mice lacking inducible nitric oxide synthase demonstrate impaired killing of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect. Immun.* **71**: 4917-4924.

^{146.} WU, T., TREVISAN, M., GENCO, R.J., FALKNER, K.L., DORN, J.P., SEMPOS, C.T. (2000). Examination of the relation between periodontal health status and cardiovascular risk factors: Serum total and high density lipoprotein cholesterol, C-reactive protein, and plasma fibrinogen. *Am J Epidemiol* **151**: 273-282.

^{147.} BRIAN, L., MEALEY, GLORIA, L. (2007). Ocampo. Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. *Periodontology 2000.* **Vol 44**: 127-153.

^{148.} KENDALL, H.K., HAASE, H.R., LI, H. (2000). Nitric oxide synthase type-II is synthesized by human gingival fibroblasts. *J Periodont Res.* **35**: 194-200.

- ¹⁴⁹. SKALERIC, U., GASPIRC, B., MC CARTNEY-FRANCIS, N., MASERA, A., WAHL, S.M. (2006). Proinflammatory and Antimicrobial Nitric oxide in Gingival Fluid of Diabetic Patients with Periodontal Diseases. *Infection And Immunity*. **74**: 7010-7013.
- ¹⁵⁰. BRIAN, L., MEALEY, THOMAS, W., OATES. (2006) Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. *J Periodontol*. **77**: 1289-1303.