



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**DİŞİ RATLARIN YAŞAM DÖNGÜLERİNİN FARKLI
DÖNEMLERİNDE PERİODONTİTİSTEKİ KEMİK
METABOLİZMASI İLE GHRELİN İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ceren Su AKGÜN

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Gülден EREŞ

2014 – ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİŞİ RATLARIN YAŞAM DÖNGÜLERİNİN FARKLI
DÖNEMLERİNDE PERİODONTİTİSTEKİ KEMİK
METABOLİZMASI İLE GHRELİN İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ceren Su AKGÜN

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Gülden EREŞ

**Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından
12B3334006 proje numarasıyla desteklenmektedir.**

2014 – ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Periodontoloji Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21.10.2014



Prof. Dr. Murat AKKAYA
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



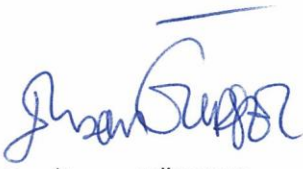
Doç. Dr. Gülden EREŞ
Ankara Üniversitesi
Raportör



Prof. Dr. Bülent KURTIŞ
Gazi Üniversitesi



Doç. Dr. Erkan YILMAZ
Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. İhsan GÜRSEL
Bilkent Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Jüri Onay Sayfası	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Periodontal Hastalık	1
1.1.1. Tanımı ve Sınıflandırılması	1
1.1.1.1. Gingival Hastalıklar	2
1.1.1.2. Kronik Periodontitis	2
1.1.1.3. Agresif Periodontitis	3
1.1.2. Periodontal Hastalık Patogenezi	3
1.1.3. Periodontal Hastalıkta Sitokinlerin Rolü	6
1.1.3.1. IL-1 β	8
1.1.3.2. TNF- α	11
1.2. Kemik Metabolizması	12
1.2.1. Kemik Yapısı	12
1.2.2. Kemik Yapım ve Yıkım Metabolizması	14
1.2.2.1. Başlangıç Fazı	15
1.2.2.2. Geçiş Fazı	16
1.2.2.3. Terminal Faz	17
1.2.3. Kemik Yapım ve Yıkımında RANKL/RANK/OPG' nin Fonksiyonları	17
1.2.3.1. RANK	17
1.2.3.2. RANKL	17
1.2.3.3. Osteoprotegerin (OPG)	18
1.2.4. Kemik Turnover'ının Biyokimyasal Belirteçleri	19
1.2.4.1. Kemik Yapımının Biyokimyasal Belirteçleri	19

1.2.4.1.1. Alkalen Fosfataz (ALP)	19
1.2.4.1.2. Osteokalsin	20
1.2.4.1.3. Prokollajen I Ekstensiyon peptid	20
1.2.4.1.4. Kemik Sialoproteini	21
1.2.4.2. Kemik Yıkımının Biyokimyasal Belirteçleri	21
1.3. Cinsiyet Hormonları	21
1.3.1. Kadın Cinsiyet Hormonları ve Periodontal Duruma Etkileri	22
1.3.1.1. Östrojen	22
1.3.1.2. Progesteron	23
1.3.2. Kadınların Yaşam Döngüsündeki Farklı Dönemler ve Periodontal Duruma Etkileri	24
1.3.2.1. Puberte	24
1.3.2.2. Menstrual Siklus	25
1.3.2.3. Menopoz ve Postmenopoz	26
1.4. Ghrelin Hormonu	27
1.4.1. Ghrelinin Yapısı	28
1.4.2. Açıl ve Desaçıl Ghrelin	29
1.4.3. Ghrelinin Dokulardaki Dağılımı	31
1.4.4. Ghrelinin Fizyolojik Fonksiyonları	33
1.4.4.1. GH Salgılatıcı Aktivitesi	33
1.4.4.2. ACTH Salgılatıcı Aktivitesi	33
1.4.4.3. Beslenme Üzerine Etkisi	33
1.4.4.4. Vagal Etkileri	34
1.4.4.5. Hücre Farklılaşması Üzerine Etkisi	34
1.4.4.6. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri	35
1.4.4.7. Otonom Sinir Sistemi Üzerine Etkileri	35
1.4.4.8. Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri	35
1.4.4.9. Üreme Sistemi Üzerine Etkileri	36
1.4.4.11. Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkileri	36
1.4.4.12. Yağ Dokusu Üzerine Etkileri	37
1.4.4.13. Diğer Endokrin Hormonlar Üzerine Etkileri	37
1.4.4.14. Uyku Üzerine Etkileri	37

1.4.4.15. Davranışsal Etkileri	37
1.4.5. Ghrelin Düzeyini Etkileyen Faktörler	38
1.4.5.1. Açlık ve Besin Alımı	38
1.4.5.2. Glikoz ve Diyet	39
1.4.5.3. İnsülin Hormonu	39
1.4.5.4. Leptin ve Diğer Hormonlar	39
1.4.5.5. Cinsiyet	40
1.4.5.6. Yaş	40
1.4.5.7. Obezite	41
1.4.5.8. Gebelik	41
1.4.6. Ghrelin Hormonuyla İlişkili Hastalıklar	42
1.4.6.1. Polikistik Over Sendromu (PKOS)	42
1.4.6.2. Diabetes Mellitus	42
1.4.6.3. Hipertansiyon	42
1.4.6.4. Akromegali	43
1.4.6.5. Hipo-Hipertiroidizm	43
1.4.6.6. Diğer Hastalıklar	43
1.4.7. Ghrelin ve İmmün Sistem	44
1.4.8. Ghrelin ve Kemik Metabolizması	46
1.4.9. Ghrelin ve Periodontal Hastalık	46
2. MATERYAL VE METOD	48
2.1. Deney Hayvanları	48
2.2. Deneysel Çalışma Modeli	48
2.3. Biyokimyasal Analizler	51
2.4. İstatistiksel Analiz	52
3. BULGULAR	53
4. TARTIŞMA	60
5. SONUÇLAR	72
ÖZET	73
SUMMARY	75
KAYNAKLAR	76
EKLER	98

Ek-1. Etik Kurul Onayı

98

ÖZGEÇMİŞ

99

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında puberte öncesindeki, pubertedeki, erişkin ve yaşlı ratlarda ligatürle periodontitis oluşturarak periodontitis öncesi ve sonrası dolaşımdaki enflamatuvar reaksiyon ürünleri ve ghrelin seviyeleri sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır.

Doktora eğitimim süresince hoşgörüsünü, güler yüzünü, değerli bilgi, tecrübe ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, kendisinden çok şey öğrendiğim, üzerimde çok büyük emeği olan ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum sevgili hocam Doç. Dr. Gülden EREŞ'e sonsuz teşekkür ederim.

Mesleki ve hayata dair bilgileriyle doktora eğitimim boyunca bana yol gösteren değerli hocam Prof. Dr. Murat AKKAYA'ya,

Doktora eğitimime katkısı olan değerli bölüm hocalarım Prof. Dr. Nejat ARPAK'a, Prof. Dr. Hamit BOSTANCI'ya, Prof. Dr. Yaşar AYKAÇ'a, Prof. Dr. Meral GÜNHAN'a ve Prof. Dr. Elif Ünsal'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezim sayesinde tanıştığım ama her konuda engin bilgisinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. İhsan GÜRSEL'e;

Tez çalışmalarım sırasında yardım ve desteğini benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Bülent KURTİŞ'e;

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bize yol göstermesi ve değerli katkıları dolayısıyla değerli hocam Doç. Dr. Erkan YILMAZ'a;

Birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım ve yardımları için minnettar olduğum Dr. Ayça YILMAZ'a teşekkür ederim.

Hayvan deneyleri esnasında güleryüzleri ve sonsuz sabırlarıyla bana yardımcı olan GÜDAM veteriner hekimleri Dr. Elif ERGÜVEN KAYA, Dr. Şeyda DİKER, Dr. Elvan ANADOL' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimimin ve hayatımın iyi kötü her anını paylaşan, her zaman yanımda olan dostum Dt. Doğu ALPAT'a,

Desteklerini her zaman hissettiğim ve aynı ortamda çalışmaktan büyük keyif aldığım başta Dr. Dt. Zeynep EROĞLU ve Dr. Dt. Merve ALAYLI olmak üzere, tüm bölüm arkadaşlarıma çok teşekkür ediyorum.

Beni yetiştiren, bugünlere gelmemde emeği büyük olan, koşulsuz sevgi ve şefkatleriyle hayatım boyunca her zaman yanımda olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, bana sonsuz sabır gösteren, çocukları olmaktan gurur duyduğum canım babam İsmet AKGÜN'e ve canım annem Hülya AKGÜN'e;

Varlığını ve sevgisini her zaman hissettiğim, bana her zaman destek olan, her türlü kahrımı çeken Onur DEMİRTAŞ'a tüm kalbimle teşekkür ediyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
ALP	Alkalen Fosfataz
BMI	Vücut Kütle İndeksi
BMU	Kemik Metabolizma Ünitesi
DOS	Dişeti Oluğu Sıvısı
GH	Büyüme Hormonu
GHS	Büyüme Hormonu Salgılatıcı
GHS-R	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Reseptör
GLA	Glutamik Asit
HDL	High Density Lipid
IFN- γ	İnterferon- Gama
IGF	Insulin-like Growth Factor
IL	İnterlökin
LPS	Lipopolisakkarit
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NF-kB	Nüklear Factor-kappaB
OC	Osteokalsin
OPG	Osteoprotegerin
PDGF	Platelet-derived Growth Factor
PGE2	Prostaglandin E2
PKOS	Polikistik Over Sendromu
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
RANK	Receptor Activator of Nuclear Factor-kappaB
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor-kappaB Ligand
TGF	Transforming Growth Factor
Th	Thelper
TNF	Tümör Nekrozis Faktör

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Kemik yapım-yıkım döngüsü	15
Şekil 1.2. Açıl ghtelin oluşumu	29
Şekil 1.3. Oktanil Grubuna Göre Ghrelin	30
Şekil 1.4. Ghrelinin Dokulardaki Dağılımı	32
Şekil 2.1. Denek grubunda üst 1. ve 2. molar dişlere ligatür bağlanması	49
Şekil 2.2. Denek grubundaki sıçanın üst çenesi	50
Şekil 2.3. Denek grubundaki sıçanlardan alınan radyograf	50
Şekil 2.4. Kontrol grubundaki sıçanlardan alınan radyograf	50
Şekil 2.5. ELİSA kitleri deney aşaması	51
Şekil 2.6. ELİSA kitleri deney aşaması	51

ÇİZELGELER

Çizelge 3.1. Pubertal sıçanlarda denek grubu ve kontrol grubunun karşılaştırılması	53
Çizelge 3.2. Erişkin sıçanlarda denek grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılması	54
Çizelge 3.3. Postmenopozal sıçanlarda denek grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılması	55
Çizelge 3.4. Pubertal, erişkin ve postmenopozal sıçanların kontrol gruplarının karşılaştırılması	56
Çizelge 3.5. Pubertal, erişkin ve postmenopozal sıçanların denek gruplarının karşılaştırılması	57
Çizelge 3.6. Total Ghrelin konsantrasyonu ile diğer değişkenlerin konsantrasyon değerleri arasındaki ilişkiler (Pearson ilişki katsayıları)	58
Çizelge 3.7. Açile Ghrelin konsantrasyonu ile diğer değişkenlerin konsantrasyon değerleri arasındaki ilişkiler (Pearson ilişki katsayıları)	59

1. GİRİŞ

1.1. Periodontal Hastalık

1.1.1. Tanımı ve Sınıflandırılması

Periodontal hastalık, dental plak birikimine cevap olarak oluşan, dişi çevreleyen dokularda meydana gelen enflamatuvar bir hastalıktır (Loesche, 2001). Periodontal hastalık gingivitis ve periodontitisi kapsar (Loesche, 2001).

Gingivitis, dental plak bakterileri ve ürünlerine karşı dişin etrafındaki yumuşak doku enfeksiyonunu tanımlar (Mariotti, 1999). Periodontitis ise dişin etrafındaki destek dokularda yani periodontal ligament, alveoler kemik ve yumuşak dokulardaki enflamasyonu tanımlar (Cobb, 2009). Periodontitis, gingivitis ile başlayabilir ancak, bütün gingivitis lezyonları periodontitise dönüşmeyebilir (Listgarten, 1986). Klinik ataşman kaybı, alveoler kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve gingival enflamasyon periodontitisin temel klinik özellikleridir. Ayrıca, dişetinde çekilme, sondalamada kanama, mobilite ve diş kaybı söz konusu olabilir (Flemming, 1999). 1990'lı yıllarda periodontitisin oluşmasının sadece bakteri varlığına bağlı olmadığı; metabolik hastalıklar, sigara kullanımı gibi çevresel ve genetik faktörlerin de rol oynadığı “multifaktöriyel “ bir hastalık olduğu ortaya konmuştur (Page-Kornman, 1997; Kornman, 2008).

Periodontitisin multifaktöriyel bir etyolojiye sahip olması bu hastalığın etyolojisini, patogenezi ve tedavisini daha iyi anlayabilmek için araştırmacıları detaylı bir sınıflama yapmaya yöneltmiştir (Stabholz, 2010).

1999 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi yeni bir sınıflama yapmıştır (Armitage, 2000).

- Gingival Hastalıklar
 - Plağa bağlı gingival hastalıklar
 - Plağa bağlı olmayan gingival hastalıklar
- Kronik Periodontitis
- Agresif Periodontitis
- Sistemik Hastalıkların Bir Bulgusu Olarak Periodontitis
- Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
- Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis
- Periodonsiyumun Apseleri
- Gelişimsel ya da Kazanılmış Deformiteler ve Durumlar

1.1.1.1. Gingival Hastalıklar

Plağa bağlı gingival hastalıklar, başka bir lokal faktöre bağlı olmadan yalnızca dental plak sonucu oluşan hastalıklardır. Hastalığın şiddetlenmesinde sistemik faktörler, ilaçlar, beslenme bozuklukları ya da hormonal faktörler gibi eksojen faktörler de katkıda bulunabilir (Highfield, 2009). Plağa bağlı olmayan gingival hastalıklar, bakteriyel, fungal ya da viral enfeksiyonlar, sistemik durumlar, yabancı cisim reaksiyonları, travma lezyonları, genetik orijinli lezyonlar, alerjik reaksiyonlar gibi sebeplere bağlı olarak oluşan hastalıklardır (Highfield, 2009).

1.1.1.2. Kronik Periodontitis

Kronik periodontitis, dental plak mikroorganizmalarına karşı periodontal dokularda meydana gelen klinik ataşman kaybı, alveoler kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve dişin destek dokularında enflamasyonla karakterize bir hastalıktır. Ek olarak dişetinde çekilme, kanama ve dişlerde artmış mobilité görülebilir. Periodontitisin en sık görülen formudur (Flemmig, 1999; Highfield, 2009).

1.1.1.3. Agresif Periodontitis

Agresif periodontitis; klinik olarak sağlıklı hastalarda kronik periodontitisteki kadar yoğun diştaşı ve plak görülmemesine rağmen hızlı yıkımla karakterize, ailesel geçiş gösteren bir hastalıktır (Armitage, 2010; Carranza, 2011a).

Lokelize ve generalize olarak sınıflandırılabilir. Lokelize formu, erken yaşlarda görülür (puberte) ve 1. molar ya da keser dişle birlikte en fazla iki daimi dişin daha etkilenmiş olması gerekir. Generalize form genellikle 30 yaş altında görülür ve 1. molar ve keser dişler haricinde en az 3 daimi dişte daha ataşman kaybı olmalıdır. Periodontal yıkım episodiktir (Carranza, 2011a).

1.1.2. Periodontal Hastalık Patogenezi

Periodontal hastalıklar, diş destekleyen kemik ve bağ dokusunda yıkıma yol açan infeksiyöz, inflamatuvar hastalıklardır (Kornman, 2008). Periodontitisin oluşması ve ilerlemesi için hastalığa yol açabilecek mikroorganizmaların ortamda bulunmasının gerektiği bilinmektedir. Periodontal cep içinde 500'den fazla türde mikroorganizma tespit edilmiş ancak bunların küçük bir kısmı etyolojik ajan olarak tanımlanmıştır (Moore, 1994). Periodontal hastalığa sebep olduğu birçok çalışma ile belirlenen bakteriler; *Porfiromonas gingivalis* (Pg), *Tanarella forsythia* (Tf) ve *Agregetibacter actinomycetemcomitans* (Aa)'dır. Patojenik bakteri, hastalık oluşumu için gerekli ancak yeterli değildir. Konak faktörleri de hastalık oluşum sürecinde bakteri varlığı kadar önemlidir. Ayrıca konak cevabını etkileyen genetik ve sigara kullanımı gibi çevresel faktörler hastalığın oluşumunda ve şiddetinin belirlenmesinde önemlidir (Page ve Kornman, 1997).

Periodontal hastalıkların başlamasında primer etyolojik ajan bakteri plağıdır (Kinane, 2001). Periodontal dokularda sağlıktan hastalığa geçişte, mikrobiyal kompozisyon gram-pozitif aerobik koklardan, gram negatif bakterilere doğru değişiklik gösterir

(Listgarten, 1986). Mikrobiyal birikimin artmasıyla marjinal dişetinde klinik olarak görülebilen inflamasyon başlar (Schroeder, 1996; Schroeder ve Listgarten, 1997).

İnflamasyon, organizmanın biyolojik, fiziksel ya da kimyasal uyaranlara karşı oluşturduğu vasküler ve hücrel olayları içeren bir reaksiyondur. İnflamatuar cevabın amacı, yara iyileşmesinin sağlanması, hasarlı ya da değişikliğe uğramış dokuların tamiri ve konağı enfekte eden mikroorganizmaların uzaklaştırılmasıdır (Larsen, 1983). Son bilgiler, iltihabi yanıtın doğasında uyarana bağlı değişiklikler olabileceği ve bu değişikliklerin de özel reseptörler ve sinyal iletim mekanizmaları tarafından gerçekleştiğini doğrulamaktadır (Janeway, 2002).

İltihabi yanıt, periodontal hastalığın bütün evreleri boyunca hem klinik hem de histolojik olarak izlenebilir. Akut inflamasyonda ilk basamak damarsal geçirgenliğin artışıdır. Bakteri veya bakteri ürünleri epitel ile etkileşime girerek alttaki bağ dokusuna penetre olur ve birleşim epitelinin hemen altındaki küçük kan damarlarında inflamasyon görülür. Bağ dokusundaki mikrovasküler yapının etkilenmesi sonucu, histamin ve bradikinin gibi vazoaktif mediyatörler salınır. Bunun sonucunda artmış permeabilite nedeniyle damardan birleşim epiteline oradan da dişeti oluğuna göç eden nötrofillerin sayısında artma görülür. Bu olay meydana gelirken küçük miktarlarda kollajen ve diğer perivasküler extraselüler matrix elemanları hasara uğrar. Bu mikrobiyal birikim devam ederse birkaç gün içinde gingivitis oluşur (Page & Kornman, 1997). Gingivitisin ve devamında periodontitisin gelişimi histopatolojik olarak başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyon olmak üzere 4 aşamada incelenmiştir (Page and Schroeder 1976).

Periodontitisin ‘başlangıç lezyonu’ plak birikimini takiben ilk 4 gün içinde gelişir. Bu aşama subklinik seyreder. Bakteri enzimlerine ya da ürünlerine karşı oluşan karakteristik immün cevap, kompleman sisteminin alternatif yolunun aktivasyonu sonucu gelişir. Anafilatoksin C3a ve C5a, mast hücrelerini aktive ederek vazoaktif aminlerin salımına neden olur. Kan damarlarında dilatasyon meydana gelir, vasküler permeabilite artar ve ödem oluşur. Mikro çevredeki hidrostatik basınç artışıyla birlikte damar dışına sıvı ve protein çıkışı görülür. Eş zamanlı olarak dişeti oluğu

sıvısı (DOS) artar, nötrofillerin gingival sulkusa göçü, bağ dokusunda bozulmalar ve TNF- α salımı görülür. Bu son olay endotelial hücrelerden adezyon moleküllerinin salımı için kritik bir aşamadır. Adezyon moleküllerinin salımını takiben nötrofillerin endotelial tabakaya adezyonu ve sonrasında migrasyonu gerçekleşir. Organize plak biyofilminin varlığı nötrofillerden lizozomal ajanların salımına neden olmasına rağmen, oluşan fagositoz çok şiddeti değildir. Yine de aşırı aktif olan bu ajanlar lokal doku yıkımını arttırlar. Bu aşamada, yaklaşık olarak %5-10 oranında bir doku yıkımı meydana gelir, ancak lezyon klinik olarak gözlenmez (Smith, 2010).

‘Erken lezyon’ plak birikimini takiben 4-7 günde ortaya çıkar. Başlangıç lezyonunda konak defans mekanizmalarının enfeksiyonu ortadan kaldıramaması sonucu meydana gelir ve bu aşamada enflamatuvar hücre dengesinde değişiklikler gözlenir. Erken lezyon, hücresele seviyede lenfositlerin ve makrofajların artışı ile karakterizedir (Smith, 2010). Lenfositlerin yaklaşık %75’ini T lenfositleri oluşturur, CD4:CD8 oranı yaklaşık 2:1 şeklindedir (Berglundh ve Donati, 2005). Erken lezyonun gecikmiş tip hipersensitivite lezyonu ile benzer olduğu bildirilmiştir (Smith, 2010). Kapiller yapıda ve perivasküler alandaki enflamatuvar infiltrat birikiminde artış meydana gelir. Sonuç olarak gingivitis tablosu ortaya çıkar. Kollajen yıkım miktarı artarak ortalama %70 oranına ulaşır. Fibroblastlarda sitotoksik değişiklikler ve kollajen üretiminde azalma meydana gelir. Birleşim epitelinde rete peg formasyonu izlenmeye başlar. Klinik olarak eritem ve sondalamada kanama görülebilir (Page and Kornman 1997, Carranza 2011b, Tatakis and Kumar 2005).

‘Yerleşmiş lezyon’ kronik gingivitis olarak da adlandırılır. Plak oluşumunu takiben 14-21 günde gözlenir. Bu aşamada kan damarları genişlemiş ve dolgunlaşmıştır. Ayrıca venöz dolaşım da bozulmuştur. Kırmızı kan hücrelerinin damar dışına çıkışı gözlenir. Buna bağlı olarak gingiva mavimsi kırmızı renkte görünür. Plazma hücrelerinin varlığı yerleşik lezyonun karakteristik bir özelliğidir. Plazma hücreleri sadece birleşim epitelinin altında değil, aynı zamanda derin bağ dokusunda da gözlenir. Birleşim epitelinde interselüler alanlar genişlemiştir ve granüler, hücresele debrisle doludur. Birleşim epitelinde meydana gelen rete pegler bağ dokusunun içerisine doğru uzamıştır. Ayrıca bu aşamada bazal laminanın bazı alanlarında da

bozulmalar gözlenir. Bağ dokudaki kollajen lifler bozulmuştur ve bu alanları plazma hücresi, nötrofil, lenfosit, monosit ve mast hücrelerinden oluşan infiltrat doldurmuştur. Kollajen yıkımı devam etmesine rağmen yerleşmiş lezyonda kemik yıkımı gözlenmez.

‘İlerlemiş lezyon’ yerleşmiş lezyonun tüm karakteristik özelliklerini taşımakla beraber, kemik yıkımının da görüldüğü aşamadır. Lezyon bu aşamada gingiva içerisinde sınırlı kalmayıp periodontal ataşman aparatının bağ dokusuna doğru yayılır. İlerlemiş lezyonda dominant hücre tipinin plazma hücresi olduğu tespit edilmiştir. Bu aşamada plazma hücresiyle beraber lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu devam eder. Periodontal cep formasyonu, cep epitelinde ülserasyonlar, periodontal ligament ve alveolar kemik kaybı gözlenir. İlerlemiş lezyon aynı zamanda periodontitis olarak da adlandırılır (Carranza 2011b).

Mikrobiyal enfeksiyonu ortadan kaldırmak ve periodontitis gelişimini önlemek için nötrofil migrasyonu, antikor üretimi, kompleman aktivasyonu ve sitokinler gibi konağa ait birçok savunma mekanizması harekete geçer. Periodontitiste, inflamatuvar cevap iki tarafı keskin bıçak gibidir. Bir taraftan dokulara bakteriyel invazyonu önlemek üzere koruyucu rol oynarken; diğer taraftan inflamasyon kronikleştikçe iltihabi mediyatörlerin sürekli ve fazla miktarda sentezlenmesi, konak dokularında geri dönüşümsüz yıkıcı etkilere yol açar. Sonuç olarak konağa ait yıkıcı ve koruyucu mekanizmalar arasındaki dengenin bozulması ve immün yanıtın konak aleyhine dönmesi dişi destekleyen dokularda yıkıma neden olur (Kornman, 1997; Schenkein, 2006).

1.1.3. Periodontal Hastalıkta Sitokinlerin Rolü

Sitokinler; lokal, sistemik ve iltihabi cevapları düzenleyen, yara iyileşmesi, hematopoezis gibi birçok biyolojik olayda görev alan çözünebilir mediyatörlerdir (Oppenheim, 1994). Sitokinler, efektör hücrelerin aktivasyonu ve proliferasyonu üzerinde rol oynayan, hücre fonksiyonlarını düzenleyen moleküllerdir (Kelso, 1990).

İmmünite ve inflamasyonun başlamasında; immün cevabın süresinin ve büyüklüğünün belirlenmesinde etkilidirler. Pikomolar konsantrasyonlarda etkilerini göstererek, sınırlı sayıda eksprese edilen spesifik hücre yüzey reseptörleriyle etkileşirler. Sitokinlerin çoğunun değişik hedef hücreler üzerinde birden çok etkileri vardır (Balkwill, 1989). Monositlerden köken alanlar ‘monokin’, lenfositlerden köken alanlar ‘lenfokin’ ve lökositlerden köken alanlar ise ‘interlökin’ olarak adlandırılırlar (Abbas, 2000).

Bakteri-konak ilişkisi sonucu akut inflamatuvar cevap şeklinde başlayan, T lenfositlerin ve ardından da B lenfositlerin yoğun olduğu evreye dönüşen periodontitiste, bu evreler arası geçişler; hücrelerin sahaya toplanması, farklılaşması ve gelişiminden sorumlu olan sitokinler tarafından yönlendirilmektedir (Academy Reports, 1999).

İmmün yanıtı yönlendiren kompleks sitokin ağı, pro-inflamatuvar sitokinler, anti-inflamatuvar sitokinler ve spesifik sitokin reseptörlerini içermektedir. Anti-inflamatuvar sitokinler ve spesifik sitokin reseptörleri, pro-inflamatuvar sitokin cevabını kontrol ederek inflamasyonun düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (Opal, 2000).

Fizyolojik koşullarda, sitokin inhibitörleri ve anti-inflamatuvar sitokinler iltihabi yanıtı düzenlerken; inflamatuvar reaksiyonların potansiyel zararlı etkilerini kontrol ederler. İmmün sistemin pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar komponentleri arasında dinamik bir denge söz konusudur. Ancak romatoid artrit, iltihabi osteoartrit ve periodontitis gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda, anti-inflamatuvar yanıtın yetersiz olması ya da olmaması, patogenezi açıklayan önemli bir mekanizma olarak öne sürülmektedir (Munoz, 1991; Dinarello, 1998).

Histolojik çalışmalar, ilerlemiş periodontal lezyonlarda lenfositlerin baskın hücre tipi olduğunu göstermektedir. T lenfositler kronik inflamasyonda immünregulator rolü olan birçok sitokinin kaynağıdır. Son yıllarda yapılan araştırmalar farklı T hücre alt grupları üzerinde yoğunlaşmıştır. T hücre alt gruplarının ürettikleri sitokin profilinin

immün yanıtı yönlendirdiği ve periodontal hastalığın ilerlemesinde kritik rol oynadığı öne sürülmüştür (Liew, 2002).

CD4+ T helper (Th) hücreleri, ürettikleri spesifik sitokinlere göre Th1 ve Th2 olmak üzere iki farklı fenotipe farklılaşırlar (Shapira, 1994). Th1 tip hücreler IL-2, IFN- γ , IL-12, TNF- α salgılayarak intrasellüler patojenlere karşı hücresel immüniteyi aktive eder. Th2 hücreler IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 gibi anti-inflamatuar sitokinleri üreterek, ekstrasellüler patojenlere ve parazitlere karşı humoral immün cevabı indüklerler (Kelso, 1995). Th1/Th2 profilinin periodontal hastalıkta immün yanıtın düzenlenmesinde rol oynayabileceği öne sürülmektedir (Seymour, 2001).

Hayvan modelleri ve insan dokuları üzerinde in vivo ve in vitro koşullarda yapılan birçok çalışma periodontal hastalıkta immün cevabın her aşamasında kompleks sitokin ağının anahtar rol oynadığını ortaya koymuştur (Gemmell, 1997; Landi, 1997). Ancak, periodontal hastalıkta immünolojik cevabın başlaması, düzenlenmesi ve devam etmesinde en önemli ve birincil rol oynayan sitokinleri tanımlamak mümkündür. Bu listenin başında çoğunlukla makrofaj ve monositlerden salınan IL-1, Th1 tip hücrelerden salınan TNF- α ve Th2 tip hücrelerden salınan IL-10 gibi sitokinler gelmektedir (Seymour, 2001).

1.1.3.1. IL-1 β

IL-1, güçlü inflammatuar özellikleriyle birçok hücre tipini aktive edebilen multifaktoriyel bir sitokindir. IL-1 sitokin ailesi, IL-1 α , IL-1 β ve IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) ve iki reseptör proteinden (IL-1RI, IL-1RII) oluşmaktadır. İkinci kromozomun uzun kolu üzerinde konumlanan IL-1 α , IL-1 β ve IL-1Ra genleri, bakteri hücre duvarı komponentleri, sitokinler, ve iltihabi medyatörler gibi çevresel sinyaller yoluyla transkripsiyonel olarak düzenlenir (Dinarello, 1998).

IL-1 inflamasyonlu bölgelerde üretilen major sitokindir. Genel olarak antijenle uyarılmış makrofaj ve monositlerden salınır. Bununla beraber, nötrofiller,

keratinositler, gingival ve dermal fibroblastlar, endotelial hücreler gibi birçok farklı hücre tipinden sentezlenebilir (Delaleu, 2004). Yapılan çalışmalarda, periodontal dokularda B hücrelerinin de major IL-1 kaynağı olduğu görülmüştür (Seymour, 2001).

IL-1'in farklı genlerle kodlanan α ve β olmak üzere iki formu tanımlanmıştır. IL-1 β daha etkin olmakla birlikte her iki form da proenflamatuvar aktiviteye sahiptir (Delaleu and Bickel, 2004; Liu, 2010). IL-1 β , IL-1 α 'ya göre 10-50 kat daha fazla üretilir. T lenfositlerinin stimülasyonu ve lenfokin üretimi, B lenfositlerinin çoğalmasının indüklenmesi ve antikor üretimi, fibroblast çoğalmasının indüklenmesi, monositlerden ve fibroblastlardan PGE2 salımının uyarılması, MMP'lerin salımının indüklenmesi, osteoklast formasyonunun stimülasyonu ve kemik rezorpsiyonu IL-1 β 'nın fonksiyonları arasındadır. Ek olarak, IL-1 β 'nın nötrofil kemotaksisini aktive ettiği ve endotelial hücre fonksiyonunu etkilediği gösterilmiştir (Delaleu and Bickel, 2004; Goutoudi, 2004; Taylor 2010). Bununla birlikte, IL-1 β düşük konsantrasyonda lokal enflamasyonun bir mediyatörü olarak fonksiyon göstermesine rağmen, yüksek konsantrasyonda kan dolaşımına geçerek endokrin aktivite sergiler. Ateş, karaciğerden akut faz plazma proteinlerinin sentezinin indüklenmesi gibi sistemik reaksiyonlara neden olur (Orozco, 2006)

Doğal ve özgül immün cevapta rol oynayan antijen sunan hücreler, T hücreleri ve B hücreleri direkt ya da indirekt yolla IL-1 tarafından uyarılır. Aynı şekilde T hücreleri de IL-1 salımını yönlendirerek immün yanıtı şiddetlendirir ya da baskırlar. İn vitro koşullarda IL-1'in birçok hücre tipinden prostoglandin E2 ve proteazların üretimini artırdığı; kartilaj ve kemik katabolizmasını indüklediği ve fibroblast proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir. IL-1 α ve IL-1 β , monosit ve fibroblastlardan büyük miktarlarda IL-6, TNF- α , prostoglandin E2, matriks metalloproteinazları gibi medyatörlerin üretimine neden olur. Bu medyatörlerin üretimi kollajen degradasyonu ve osteoklast aktivasyonuna yol açar (Dinarello, 1996). Bütün bu olaylar serisi kronik inflamasyonun parçasıdır.

IL-1 kendi sinyalini güçlendirmek için başka hücrelerden de IL-1 salımını tetikler. IL-1 aktivitesi özgün inhibitörü IL-1Ra dışında, kortikosteroidler, prostoglandinler, IL-4 , IL-10 ve IL-11 gibi anti-inflamatuar sitokinler tarafından baskılanır (Opal, 2000).

IL-1'e bağlı bu mekanizmaların periodontal hastalıkta kemik ve doku yıkımına yol açabileceğini göstermek için birçok çalışma yapılmıştır. Aktif periodontitisli bölgelerle sağlıklı bölgeler karşılaştırıldığında, hem dişeti oluğu sıvısında, hem de dişeti dokusunda IL-1 seviyesinin arttığı ve hayvan modellerinde sitokin seviyesindeki artışın, hastalığın aktivitesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Jardinski, 1991; Preiss, 1994; Ebersole, 1993; Stashenko, 1991; Engebretson, 2002).

Yapılan bir çalışmada periodontitisli bölgelerden elde edilen dişeti biyopsilerinde, IL-1 β konsantrasyonunun sağlıklı bölgelere göre arttığı; gingival indeks ve plak indeksi gibi klinik parametrelerle ve iltihabi hücre yoğunluğuyla pozitif korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (Hou, 2003). Bu çalışmanın sonuçlarına göre, dokuda saptanan IL-1 β periodontal inflamasyonun şiddeti ve hastalık aktivitesiyle uyumludur.

Başka bir çalışmada DOS IL-1 β düzeyinin klinik parametrelerle olan ilişkisi hafif, orta ve şiddetli periodontitisi olan bireylerde incelenmiştir. Sonuç olarak, şiddetli periodontitisi olan bireylerde hafif-orta düzeyde periodontitisi olanlara göre iki kat daha yüksek IL-1 β düzeyi saptanmıştır (Engebretson, 2002).

Aktif ataşman kaybı olan bölgelerde, stabil periodontitisli ya da sağlıklı bireylere göre artan miktarda IL-1 β düzeyleri kaydedilmiştir (Jardinski, 1991). Ayrıca, periodontal tedaviden sonra DOS IL-1 β düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (Reinhardt, 1993; Gamonal, 2000). Dişeti oluğu sıvısında artmış IL-1 β seviyeleri periodontal hastalık şiddetiyle ilişkili bulunmuştur (Rawlinson, 2000).

1.1.3.2. TNF- α

İlk olarak lipopolisakkarit (LPS) ile muamele edilen hayvanların serumunda bir tümör nekroz mediatörü olarak tanımlanmıştır. Tümör inhibisyonu yapan ve endotoksinlerin uygulanması sonrası nekroza yol açan bir materyali tanımlamak için bu isim verilmiştir. TNF- α ve TNF- β olmak üzere iki alt grubu vardır (Graves, 2003).

TNF, periodontal dokulardaki bir çok hücreden salınmaktadır. Bu hücreler; monositler, polimorfonükleer lökositler, dişeti ve periodontal ligament fibroblastları, epitel hücreleri, endotel hücreleri ve osteoblastlar olarak sayılabilir (Matsumoto, 1996). TNF durağan makrofajlar tarafından üretilmez veya depolanmaz, LPS ile stimülasyon sonrası üretilir veya salınır. Çok sayıda hücreyi etkileyebilmektedir. Genel olarak; fibroblastları uyarak kollajenaz salımı için uyarır, vasküler permeabiliteyi artırır, IL-1 α ve β , IL-6, IL-8 gibi sitokinlerin ve MMP lerin salınımını indükler, adezyon moleküllerinin üretimini artırır, osteoprotegerin (OPG) ve NF-kB'nın reseptör aktivatör faktörü gibi osteoklast farklılaşmasında görevli faktörlerin üretimini etkiler, ayrıca IL-1'le sinerjik etki göstererek kemik rezorbsiyonunu artırır (Erdemir, 2004).

Hayvanlarda yapılan bir deneysel periodontitis çalışmasında deney grubu hayvanlarına 6 hafta süresince TNF- α ve IL-1 antagonisti enjekte edilmiştir. Kemiğe yakın bölgelerden alınan bağ doku örneklerinde, deney grubunda kontrol grubuna oranla kemik kaybının %60 azaldığı, osteoklast formasyonunun %67, enflamatuar hücre birikiminin ise %80 azaldığı gösterilmiştir (Assuma, 1998).

TNF, osteoklastları aktive edip, yeni kemik formasyonunu inhibe ederek, IL-1'e benzer şekilde kemik yıkımına yol açar. Kartilajda kollajen sentezini artırarak proteoglikan sentezini inhibe eder, yara iyileşmesi ya da kronik inflamasyonda indüklenen fibroziste görülen fibroblast proliferasyonunu artırır (Ebersole, 2000).

Periodontitisli hastaların DOS’da TNF- α düzeyini değerlendiren bir çalışmada, klinik parametrelerle korelasyon gösterilememiş, bu nedenle araştırmacılar, TNF- α ’yı erken inflamatuvar aktivitenin indikatörü olarak yorumlamışlardır (Rossomando, 1990).

Kronik periodontitisli hastalarda yapılan bir çalışmada, iltihaplı ve sağlıklı dokularda IL-1 β , TNF- α , IL-4, IL-2, interferon- γ ve IL-10 konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçları IL-1 β , TNF- α , interferon- γ , ve IL-2’nin şiddetli periodontitisi olan hastaların dişeti dokularında sağlıklı dokulara oranla yüksek bulunduğunu göstermiştir (Honda, 2006).

Sonuç olarak IL-1 ve TNF- α ’nın lokal olarak üretimini, salımını ve biyolojik aktivitelerini kontrol eden immünolojik mekanizmalar ve genetik faktörler, periodontal hastalık patogenezinde önemli rol oynamaktadır.

1.2. Kemik Metabolizması

1.2.1. Kemik Yapısı

Kemik, organik bölgeler ve minerallerden oluşan metabolik olarak aktif bir organdır. Kompakt ve kansellöz kemik kombinasyonundan oluşmuştur. İskeletin mineral fazı ağırlığın 2/3 ünü kapsarken, geri kalan 1/3 lük kısım organik matriksten oluşmuştur. Organik matriks, primer olarak kollajen ve daha küçük miktarlarda proteoglikan, lipid ve osteopontin, osteonektin ve matriks gliko-protein gibi non-kollajenöz proteinler içerir (Schwartz, 1997).

Kemikte osteoblastlar ve osteoklastlar olmak üzere iki ana hücre tipi bulunmaktadır. Osteoblastlar, organik matriks bileşenlerini sentezlemek ve mineralizasyonla sonuçlanan olayları yönlendirmekle görevlidir. Osteoblast ilk kez mineralize matriksle çevrildiğinde “osteosit” olarak adlandırılır. Osteositler olgun kemik hücreleri olarak tanımlanırlar, çoğalma yetenekleri yoktur. Osteositler, osteoklastların ne zaman ve nerede yıkım yapacağını ya da osteoblastların ne zaman

ve nerede kemik yapımını başlatacağının belirlenmesinde mekanosensör olarak görev yaparlar (Manolagas, 2000; Caetano-Lopes, 2007).

İkinci hücre tipi olan osteoklastlar, kemiğin hem organik hem de mineral kısımlarını yıkmakla görevlidir.

Kemik makroskopik olarak 2 farklı dokudan oluşmaktadır.

- 1) Kortikal kemik
- 2) Kansellöz kemik

Her iki tip kemik de mandibulada, maksillada ve alveoler kemikte bulunur. İskeletsel yapının %80' ini kortikal kemik, % 20' sini kansellöz kemik oluşturur. Kansellöz kemik metabolik olarak daha aktif olmasına rağmen, iskeletsel metabolizma iki doku tipi arasında yaklaşık olarak eşittir. Her ikisi de hormonlara, büyüme faktörlerine ve çeşitli tedavi modellerine farklı olarak cevap verir. Bu dengedeki değişimler hem sistemik hem lokal olarak azalmış (periodontitis ve osteoporoz) ya da artmış (paget hastalığı) kemik kütlesi ile karakterize hastalıklarla sonuçlanır (Schwartz, 1997).

Kemiğin hem kortikal hem kansellöz bölümü iyi tanımlanmış lameller modelden oluşmuştur. Eğer kemik turnover çok fazla ya da anormal ise, ya da kemik iyileşme sürecinde ise lameller model bozulur, görülmez ve primer kemik (woven kemik) oluşur (Schwartz, 1997).

Kortikal kemik havers sistemlerinden oluşur. Havers kanallarındaki hücreler kortikal kemikte daha küçük bir alan kaplarken, kansellöz kemikte daha büyük bir alan kaplar. Bu durum kortikal kemiğin neden kansellöz kemikten daha düşük metabolik aktivite gösterdiğini açıklayabilir (Parfitt, 1983).

Kortikal kemik dışarda periosteum, içerde endosteum ile sınırlandırılmıştır. Endosteum yüzeyi belirgin osteoklastik ve osteoblastik aktivite gösterir. Periosteum,

gelişim sürecinde ve implant etrafındaki iyileşme sürecinde ve periodontal defektlerin rejenerasyonunda önemlidir. Gelişim boyunca periosteum kemik modelinginde önemlidir (Frost, 1964; Parfitt, 1982; Parfitt, 1983).

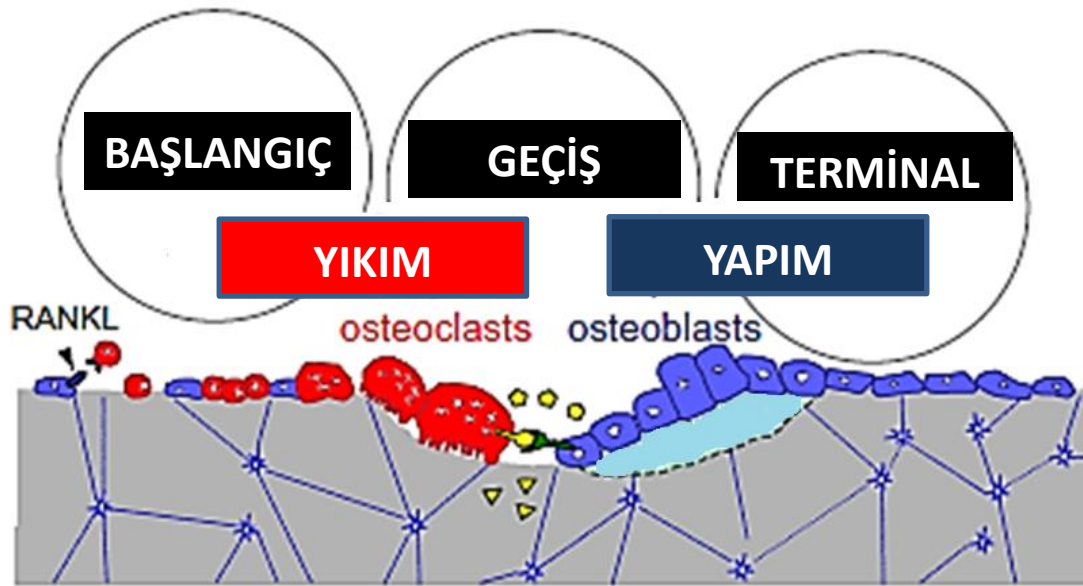
1.2.2. Kemik Yapım ve Yıkım Metabolizması

Kemik metabolizması dinamik ve devamlı bir yapım yıkım sürecidir. Bu süreç eski ya da yaralı kemiğin yıkımı ve yeni kemiğin yapımı arasındaki denge ile sürdürülür. Mikroskopik seviyede, kemik metabolizması daima kemiğin yüzeyinde kemik metabolizma ünitesi (BMU) olarak adlandırılan belli bölgelerde meydana gelir (Christenson, 1997).

Kemik hücreleri, kemik yapım ve yıkım arasındaki dengeyi düzenlemek için sürekli iletişim halindedir (Matsuo, 2008).

Osteoklastlar ve osteoblastlar, BMU bölgelerinde kemik metabolizmasını gerçekleştiren biyolojik mekanizmalardır. Osteoklastlar varolan kemiğin yıkımında görevlidir ve kemik remodeling döngüsünün erken döneminde aktiftir. Osteoblastlar, kemik yapımını gerçekleştirir. Osteoklastların kemiği yıkmasından sonra bu hücreler BMU bölgelerine yerleşir. Osteoid olarak adlandırılırlar. Osteoblastların BMU bölgelerini osteoidlerle doldurmasından sonra kemik yapım süreci durur (Christenson 1997).

Kemik remodelingi 3 fazdan oluşur; başlangıç fazı, geçiş fazı, terminal faz (Matsuo 2008).



Şekil 1.1. Kemik yapım-yıkım döngüsü

1.2.2.1. Başlangıç Fazı

Başlangıç fazı, osteoblast prekürsörlerinin toplanmasını, farklılaşmasını ve osteoblastların aktivasyonunu içerir. Kemik rezorpsiyonunun başlangıç safhasıdır. İnsanlarda osteoblastik kemik rezorpsiyonu yaklaşık 3 hafta sürer (Matsuo 2008).

Osteoklast-osteoblast iletişimi BMU bölgelerinde meydana gelir. Osteoklastogenezisin başlaması büyük oranda osteoklast prekürsörleri ve osteoblast hattındaki hücreler arasındaki etkileşime bağlıdır. RANKL sentezleyen ve osteoklast prekürsörleri üzerindeki RANK' ı uyarıcı bone lining hücreleri yassıdır ve kemik formunda değildir. Osteoblastlar yuvarlak ya da kübiktir ve aktif olarak osteoid üretirler. Osteoblastlar, makrofaj-osteoklast hattındaki hücrelerin yaşaması için gerekli olan makrofaj-colony-stimulating faktör üretir (Matsuo, 2008; Yashido, 1990; Lagosse, 1997).

1.2.2.2. Geçiş Fazı

Geçiş fazı, osteoklastik kemik yıkımının inhibe olduğu, osteoklastların apoptozise uğradığı ve osteoblastların toplandığı ve farklılaştığı bir periodu kapsar. Yıkım olan bölgeler kemik yapımı için hazırdır (Vignery, 1980; Tran Van, 1982; Daman, 2001).

Geçiş fazı “coupling” için kritik bir dönemdir. “Coupling” hücresel seviyede, kemik yıkımından kemik yapımına bir geçişi belirtir. (Hattner, 1965; Perfitt, 1982). Mikroskopik olarak BMU’ larda oluşan coupling, tüm vücuttaki coupling için temeldir (Matsuo, 2008).

Osteoklastların osteoblastik kemik yapımını aktivasyonu “coupling” te kritik bir adımdır ve hücre-hücre bağlantısı olmadan gerçekleşebilir. Osteoklastik kemik yıkımı, transforming büyüme faktörü β (TGF- β), kemik morfogenetik proteinler ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) II gibi büyüme faktörlerinin kemik matriksinden serbest kalmasını sağlayabilir (Pfeilschifter, 1987). Bu da osteoblastik kemik yapımını aktive eder (Wazney, 1988; Matsuo, 2008).

“Coupling” mekanizmaları rezorpsiyon lakünalarında kemik yapımını indükler. Lokal topografi sadece selüler kondensasyonu artırarak kemik formasyonunu indükler. Alternatif olarak, osteoblastlar osteoklast yokluğunda rezorbe lakünalardaki bileşenleri tanıyabilir (Matsuo, 2008; Gray, 1996).

Rezorpsiyon fazının sonunda osteoklastlar apoptozise uğrayıp ortamdan ayrılırlar ve platelet-türevi büyüme faktörü homodimer (PDGF-BB) sekresyonu sona erer. Osteoblast prekürsör hücreleri osteoblastlara farklılaşır ve kemik yapımı başlar (Kubota 2002, Grano 1996, Matsuo 2008).

Osteoklastların rezorbsiyonundan sonra lakünelara gelen bone lining hücreleri matriks metalloproteinazlar (MMP) aracılığıyla demineralize kollajeni ortadan

kaldırır ve ince bir fibriler kollajen tabakası oluştururlar. Böylece gerçek kemik oluşumu meydana gelmeye başlar (Everts 2002).

1.2.2.3. Terminal Faz

Bu fazda osteoblastik kemik yapımı yavaş ilerler ve yaklaşık 3 ay sürer. Osteositler, osteoblastik kemik formasyonunu baskılayan sklerostin üretir (Van Bezooijen 2004).

Terminal fazda, kemik yapımı boyunca osteoblastlar tarafından üretilen osteoprotegerin (OPG) aracılığıyla osteoklast farklılaşması baskılanmıştır (Matsuo, 2008).

1.2.3. Kemik Yapım ve Yıkımında RANKL/RANK/OPG' nin Fonksiyonları

1.2.3.1. RANK

RANK, TNF reseptör ailesinin bir üyesi olup homotrimerik transmembran bir proteindir (Boyce, 2008). RANK, preosteoklastlara RANKL'ın bağlanmasını sağlayan tek reseptördür. Makrofaj/ monositik hücreler, T ve B lenfositleri, fibroblastlar, dendritik hücreler ve öncül ve olgun osteoklastların yüzeyinde belirlenmiştir (Kurban, 2007; Khosla, 2001; Wada, 2006; Anderson, 1997).

1.2.3.2. RANKL

RANKL, TNF ligand ailesinin bir üyesidir ve hem normal hem de patolojik durumlarda kemik rezorbsiyonunun anahtar mediyatörüdür (Kurban, 2007). Lenf nodları, akciğer ve timus da daha fazla olmak üzere dalak ve kemik iliği gibi dokularda da sentezlenir. RANKL sentezi hormonlar, büyüme faktörleri ve peptidler,

sitokinler ve glukokortikoidler gibi pek çok faktör tarafından sentezlenir (Boyce, 2007; Blair, 2007; Kurban, 2007).

RANKL, öncül ve olgun osteoklastlar, uyarılmış T ve dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunan kendine ait reseptörü RANK'a bağlanarak bu hücreleri uyarır (Boyce, 2007; Lacey, 1998; Blair, 2007; Kurban, 2007). RANKL'in RANK'a bağlanması ile en az yedi hücre içi sinyal yolağı uyarılır. Bunlardan 4 tanesi olan NF- κ B inhibitörü/NF- κ B, c-jun aminoterminal kinaz/aktivatörprotein-1, c-myc ve kalsinörin/NFAT c1 doğrudan osteoklastogeneze aracılık eder. Diğer üçü ise osteoklast aktivasyonuna aracılık eder (Boyce, 2007; Kurban, 2007; Hofbauer, 1999; Wong, 1997). Hücre içi sinyal yollarının uyarılmasıyla öncül osteoklastlara farklılaşır, aktive olur ve canlılıklarını sürdürür (Boyce, 2007; Blair, 2007; Kurban, 2007; Hofbauer, 1999).

RANKL'in ana görevi osteoklast oluşumunu ve apoptozun inhibisyonunu sağlayarak kemik kaybı ve rezorbsiyonunu artırmaktır (Kurban, 2007).

RANKL'in osteoporotik etkisi yanında immün sistem üzerine de önemli etkileri vardır (Boyce, 2007; Blair, 2007; Kurban, 2007; Hofbauer, 1999; Lacey, 1998).

RANKL'in kemiğe metastaz yapan belirli kanser hücreleri için kemoatraktan olduğu ve kemik metastazlarında vaskülarizasyonu uyardığı düşünülmektedir (Kurban, 2007).

1.2.3.3. Osteoprotegerin (OPG)

Osteoprotegerin, osteoblastlara ek olarak, kalp, böbrek, karaciğer ve dalağı içeren birçok hücre tarafından salgılanır (Boyce, 2008). Osteoblastlar tarafından RANKL ekspresyonunu indükleyen faktörlerin çoğu aynı zamanda OPG ekspresyonunu da düzenler (Hofbauer, 2004). OPG kemik yıkımını inhibe eder. Kemik dokudaki biyolojik etkileri RANK/RANKL ile terstir (Kurban, 2007). RANKL ekspresyonu

arttığında OPG ekspresyonunda azalma görülür. Osteoklastogeneziste RANKL/OPG oranları değişir (Boyce, 2008).

OPG ekspresyonu sitokinler, hormonlar ve büyüme faktörleri tarafından ve ayrıca Wnt/ β -catenin yolağı ile düzenlenir (Glass, 2005; Kieslinger, 2005).

Kemik iliği hücreleri tarafından sentezlenen OPG yaşla azalmaktadır (Kurban, 2007). Romatoid artrit, Cushing ve HIV hastaları ve kemik metastazı yapan prostat kanserlerinde OPG seviyeleri artarken, multipl myelom hastalarında azalma görülür (Hofbauer, 1999; Kurban, 2007).

1.2.4. Kemik Turnover'ının Biyokimyasal Belirteçleri

1.2.4.1. Kemik Yapımının Biyokimyasal Belirteçleri

Osteoblastlar serumda kemik yapım belirteçleri olarak ölçülebilen bir grup protein sentezler ve salarlar (Swaminathan, 2001; Watts, 1999; Price, 1995). Genellikle kullanılan kemik yapım belirteçleri alkalin fosfataz, osteokalsin, prokollajen I ekstensiyon peptitleridir (Swaminathan, 2001).

1.2.4.1.1. Alkalin Fosfataz (ALP)

Alkalin fosfatazlar, plazma membran enzimleridir. Plasental, intestinal, kemik ve karaciğer olarak adlandırılan 4 adet izoenzimi vardır (Christenson 1997). Kemiğe özel ALP izoenzimi (B-ALP) çocukluk ve adolesan dönemleri boyunca artarken, karaciğer izoformu erişkin dönemde artar (Christenson, 1997; Schiele, 1983).

B-ALP osteoblastlar tarafından üretilir. Kemik yapım fazı boyunca yüksek miktarlarda üretildiği için kemik yapım aktivitesinin iyi bir göstergesidir. Klinik

olarak B-ALP'nın ölçülmesi hastaların tedavilerinin görüntülenmesinde faydalıdır (Christenson, 1997; Epstein, 1988).

Östrojen eksikliği B-ALP konsantrasyonlarında önemli bir artışa sebep olur. Postmenopozal kadınlarda menopoz öncesi kadınlara göre B-ALP seviyesi daha yüksek bulunmuştur (Devogalaer, 1996).

1.2.4.1.2. Osteokalsin

Osteokalsin kemik matriksinin majör non-kollajen proteindir ve glutamik asitten (GLA) zengindir. Kemik GLA proteini olarak da bilinir (Watts, 1999). Osteblastların yanı sıra odontoblastlar tarafından da üretilir (Swaminathan, 2001).

Osteokalsinin fonksiyonu açık olmamakla beraber, hidroksiapatit kristalleri için bir alan sunduğu düşünülmektedir. Matriks sentezi sürecinde, osteokalsin salınır ve dolaşıma geçer, ancak yarılanma ömrü kısadır ve böbrekler yoluyla atılır (Watts, 1999).

Kemik rezorpsiyonu boyunca osteokalsin azalır, kemik yapımı sırasında osteokalsin artar (Christenson 1997).

Serum OC konsantrasyonu kemik yapımının hassas bir belirtecidir. (Swaminathan 2001)

1.2.4.1.3. Prokollajen I Ekstensiyon peptid

Tip 1 kollajen prokollajen prekürsör molekülü olarak sentezlenmektedir. Bu prokollajen moleküller hem amino hem de karboksi-terminal ekstensiyon peptidleri içerir. Bu peptidler kemik yapım belirteci olarak ölçülebilir (Swaminathan, 2001).

1.2.4.1.4. Kemik Sialoproteini

Kemik sialoproteini, osteoblastlar tarafından sentezlenir ve kemik mineralizasyonuna dahil oldukları düşünülmektedir (Swaminathan, 2001).

1.2.4.2. Kemik Yıkımının Biyokimyasal Belirteçleri

Asit fosfatazlar, enzimlerin heterojenöz gruplarıdır. Osteoklastlarda asit fosfatazların iki formu gösterilmiştir. Hidroksiprolin, kollajen yıkıldığı zaman hidroksiprolin tekrar kullanılamaz ve bu nedenle serum ve idrardaki hidroksiprolin varlığının çoğu kollajen yıkımından kaynaklanır. Hidroksilizin, kollajende bulunan bir diğer aminoasittir fakat kollajen sentezinde tekrar kullanılmaz. Pyridinolin ve deoksipyridinolin, sadece kemik yıkımı ve kollajen yıkımı boyunca serbest bırakılır. N-terminal telopeptit ve C-terminal telopeptit kemik yıkım belirteci olan tip 1 kollajen telopeptitlerdir (Swaminathan, 2001).

1.3. Cinsiyet Hormonları

Hormonlar vücutta üreme, büyüme ve gelişim, homeostasisin sağlanması, enerji üretimi, enerjinin kullanılması ve depolanması gibi fonksiyonları regüle eden spesifik moleküllerdir (Mariotti, 1994). Hormonlar kimyasal yapılarına göre steroidler, glikoproteinler, polipeptidler ve aminler olarak dört ana gruba ayrılırlar (Mascarehas, 2003). Steroid yapıda olan cinsiyet hormonlarının üreme fonksiyonlarını düzenleme, sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, iskelet sistemi ve periodontal dokuları içeren oral kavitenin bütünlüğünün sağlanması gibi etkileri vardır (Lorenzo, 2003). Steroid yapıda olan androjen, östrojen ve progesteron gibi bazı cinsiyet hormonlarının reseptörlerinin periodontal dokularda bulunduğu, buna bağlı olarak sistemik endokrin değişikliklerin, periodontal patogeneizde etkili olabildiği gösterilmiştir (Gornstein, 1999).

1.3.1. Kadın Cinsiyet Hormonları ve Periodontal Duruma Etkileri

1.3.1.1. Östrojen

Doğal olarak oluşan östrojenler, androjen türevleri olan testesteron ya da androstenediondan dönüşerek oluşmaktadır (Shiau, 2014). Östriol, hamilelik boyunca özellikle plasental alanlarda üretilen temel östrojen yapısıdır. Östradiol, menarş ve menopoz arasındaki dönemde yumurtalık foliküllerinden üretilirken; östron postmenopozal kadınlardaki primer östrojen yapısıdır (Shiau, 2014; Audet-Walsh, 2011).

Kadın cinsiyet hormonlarından östrojenin periodontal dokular üzerine farklı etkileri vardır:

- Epitelyal glikojen miktarını arttırırken keratinizasyonu azaltır bunun sonucunda; epitelyal bariyerin etkinliği azalır (Mascarehas, 2003).
- Östrojen seviyesindeki azalma sonucunda vajinal mukozada epitelyal proliferasyon ve keratinizasyon azalmaktadır. Bazı araştırmacılar, östrojenin benzer etkilerini oral mukoza ve dişeti epiteli üzerinde de oluşturduklarını göstermişlerdir (Richman, 1943; Mealey, 2003). Postmenopozal kadınlarda dişeti epiteli keratinizasyonundaki azalmanın plazma östrojen seviyesinin düşmesi nedeni ile olduğu gösterilmiştir (Mealey, 2003).
- Aynı zamanda östrojen kan damarlarında hücresel proliferasyonu ve (Lindhe, 1967) polimorfonükleer lökosit (PMNL) fagositozunu arttırır (Hofmann, 1986), PMNL kemotaksisini inhibe eder (Ito, 1995).
- Dişetinde fibroblast proliferasyonunu ve dişeti bağ dokusunun sentez ve matürasyonunu stimüle eder (Beagrie, 1966).

- Plak miktarında artış olmasa da dişetinde enflamasyonu artırır (Reinhardt, 1999).
- Kemik formasyonunu stimüle eder, östrojenin tekrarlanan enjeksiyonları çenelerde endosteal kemik formasyonunun artmasına ve kemiğin ara maddesinde mukopolisakkarit protein kompleksinin azalmasına neden olmaktadır.
- Dişi hayvanlarda östrojen artmasıyla, permabilitenin artmasına bağlı olarak, gingival eksudasyon miktarı artmaktadır.
- Ayrıca; östrojen, insan oral mukozasında bağ dokunun mukopolisakkarit içeriğinde artışa neden olmaktadır (Raber-Durlacher, 1993).

1.3.1.2. Progesteron

Progesteron, yumurtalıklarda, adrenal bezlerde ve hamilelik boyunca plasentada üretilir (Shiau, 2014). Progesteron, hamileliğin başlamasında ve devamında esas rolü oynar ve bu nedenle yumurtalık fizyolojisini yöneten hormondur (Clarke, 1990).

Kadın cinsiyet hormonlarından progesteronun dişetine olan etkileri ise şunlardır:

- Vasküler sistem üzerinde önemli etkileri vardır, kapiller ve endotelial hücrelerin bütünlüğünü etkilemesinin yanı sıra, eksudasyonun artmasına da neden olduğu belirtilmiştir (Abraham-Inpijn, 1996). Progesteron vasküler dilatasyonu artırır bu yüzden permeabilite artışına sebep olur. (Mascarenhas, 2003).
- Ayrıca progesteron insanlarda dişetinde enflamasyonun ve hiperplazinin gelişmesinde rol oynar ve sağlıklı insan dişetinde progesteron sadece az miktarda metabolize olur, enflame olmuş dişetinde ise progesteron metabolizması sağlıklı dişetinden 2-3 kez daha fazladır (Ojanotko, 1991).

- Progesteronun dişetindeki konsantrasyonu ve onun metabolitleri, hamilelik esnasında çoğalabilir. Metabolitlerin akümüasyonu, daha önceden mevcut olan dişetin iltihabi cevabını şiddetlendirir bununla beraber prostaglandin üretimini artırır (El Attar, 1976).
- Progesteronun bir diğer etkisi dişeti oluşu sıvısında PMNL ve prostaglandin E2 (PGE2) yi arttırmasıdır (Ferris, 1993).
- Dişetinde fibroblast proliferasyonunu inhibe eder (Mealey, 2003). Fibroblastlarda kollajen ve non-kollajen maddelerin sentezini inhibe eder (Sooriyamoorthy, 1989). Aynı zamanda dişetinde kollajen üretim hızı ve şeklini değiştirir, bunun sonucunda; tamir ve idame potansiyeli azalır.
- Ayrıca doku tamir ve idamesinde gerekli olan folatın yıkım metabolizmasını hızlandırır (Pack, 1980).

1.3.2. Kadınların Yaşam Döngüsündeki Farklı Dönemler ve Periodontal Duruma Etkileri

1.3.2.1. Puberte

Puberte, kişinin üreme kabiliyetiyle sonuçlanan kompleks seksüel olgunlaşma safhasıdır (Mascarenhas, 2003; Ford & D'Occhio, 1989; Halpern, 1998). Bu dönemde birtakım fiziksel ve davranışsal değişimlerin yanı sıra, seks steroid hormon seviyelerinde de artış görülmektedir. Bu artış kızlarda östradiol erkeklerde testosteronla karakterizedir (Mascarenhas, 2003; Buchanan, 1992; Angold & Worthman, 1993; Angold, 1999).

Hormon seviyelerindeki bu değişimler artmış gingivitis prevalansı ile ilişkilendirilmiştir (Mascarenhas, 2003). Puberte gingivitisi, marjinal dişetinde, yapışık dişetinde özellikle de interdental papillerde enflamasyonla karakterizedir ve

bu dönemde dişeti kanamaları artmıştır (Markou, 2009). Dişlerin özellikle fasial bölgelerinde dişeti büyümeleri görülmektedir (Mealey, 2003).

Ayrıca bu dönemde seks hormonlarının, endotelyal harabiyeti ve vasküler permeabiliteyi arttırdığı, inflame dokuya lökosit göçünü ve granülasyon dokusu oluşumunu etkilediği ve subgingival flora kompozisyonunda değişiklikler oluşturduğu rapor edilmiştir (Lindhe, 1980).

1.3.2.2. Menstrual Siklus

Kadınlarda normal doğurganlık fonksiyonunun gerçekleşmesi için menarş ile menopoz dönemi arasında , yaklaşık 25-30 günlük periyotlarda seks hormonları tarafından kontrol edilen düzene menstrual siklus denir (Ganong, 1997; McCartney, 2002). Menstrual siklus, foliküler ve luteal olmak üzere iki fazdan oluşmaktadır. Foliküler fazda, östrojen seviyelerinde artış görülürken, aynı zamanda lüteinleştirici hormon progesteron sekresyonunu ve ovulasyonu uyarır. Ovulasyondan sonra luteal faz, progesteron ve östrojen sekresyonunda artışla karakterizedir. Eğer fertilizasyon gerçekleşmezse, östradiol ve progesteron plazma seviyeleri düşer (Mascarenhas, 2003; Laufer, 1982).

Hormonların belirgin bir düzeyde azalma gösterdiği menstruasyonun birinci günü dişeti ve bağ dokusundaki yenilenme kapasitesi çok daha düşüktür. Buna bağlı olarak dişeti travmaya daha açıktır. Progesteron seviyesi en düşük değerlerdedir, buna bağlı olarak iyileşme ve keratinizasyon daha yavaş gerçekleşmektedir. Menstruasyonun ortalarında ovulasyonun yaklaşmasıyla östrojen en yüksek seviyeye ulaşırken, progesteron bir kaç gün sonra maksimum düzeye ulaşır. Progesteron seviyesinin artışı ile bağ dokusunda damarlanma artar, hücreler arası bağlantılar bozulur. Dişeti dokuları dışarıdan gelen uyaranlara karşı daha da hassaslaşır. DOS'da artış gözlenir. Kanama ve ödem şikayetleri bu dönemde başlar (Amar, 1994; Mascarenhas, 2003).

1.3.2.3. Menopoz ve Postmenopoz

Menopoz; overlerdeki aktivitenin sona ermesine bağlı olarak menstrual kanamanın tamamen kesilmesi şeklinde tanımlanmaktadır (Friedlander, 2002; Mascarenhas, 2003). Menopoz sonrası dönemde, kanser, osteoporoz ve kardiovasküler hastalıklar gibi ciddi sağlık sorunları ile karşılaşma riski artmaktadır (Gambone, 2003).

Osteoporozun meydana gelmesi için öncelikle, kemik yıkımını geręekleřtiren osteoklastların ve kemik yapımının geręekleřtirilmesinde rol oynayan osteoblastların üzerlerindeki reseptörler tarafından östrojen azlığı algılanmaktadır. Bunun sonucunda osteoklast aktivitesinde artış ve osteoblast aktivitesinde de azalma meydana gelmekte ve osteoporoz ortaya çıkmaktadır (Christiansen, 1993; Friedlander, 2002; Krejci, 2001).

Menopozun doğal sonucu olarak ortaya çıkan hormon düzeylerindeki değişimlerin, sistemik kemik yoğunluğu ve IL1 β , IL6 gibi bazı sitokinler üzerine olumsuz etkileri vardır. Periodontitisin ilerleyişi ile sistemik kemik yoğunluğu arasında ilişki olduğu öne sürölmüştür. Bu konuda yapılan çalışmaların sonuçlarına göre; sistemik kemik yoğunluğu düşük olan bireylerin, kemik yoğunluğu yüksek olanlara göre daha az sayıda dişe sahip oldukları ifade edilmiştir. Ayrıca, sistemik kemik yoğunluğu azaldıkça, bireylerin daha fazla klinik ataşman kaybı gösterdiği ve daha ileri düzeyde periodontitise sahip oldukları saptanmıştır. Sistemik kemik yoğunluğunun düşük olmasının alveol kemiği kaybının ilerlemesi açasından bir risk faktörü olabileceği ve periodontal yıkıma daha yatkın bir ortam oluşturabileceği savunulmuştur (Inagaki, 2001; Mogi, 1999; Mohammad, 2003; Yoshihara, 2004).

Menopoz döneminin başlamasıyla östrojen düzeyinde azalma göröölür. Bunun sonucu olarak submandibuler ve sublingual tükörük bezlerinden salgılanan tükörüğün akış hızında azalma ve buna bağlı olarak ağızda çürük ve periodontitis oluşumunda artış olabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca bu durumun tat bozukluğu, senil atrofik gingivitis, menopozal gingivostomatitise de yol açaabileceği öne sürölmüştür (Friedlander, 2002; Krejci, 2001).

1.4. Ghrelin Hormonu

Ghrelin hormonu ilk kez 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından keşfedilen peptid yapıda bir hormondur (Kojima, 1999).

Bowers ve arkadaşları (1980), in vitro şartlarda met-enkefalin opiyatı olan sentetik bir peptid analoğu bulmuşlar ve bu maddeyi “Büyüme hormonu salgılatıcı (Growth hormone secretory), (GHS) olarak adlandırmışlardır. 1996 yılında büyüme hormonu salgılatıcı reseptörü (GHS-R) tanımlanmış ve daha sonra bu reseptörün endojen ligandının aranmaya başlanmasıyla ghrelin hormonu bulunmuştur (Petersenn, 2002). Ghrelin GHS-R’ ye bağlanmış endojen bir ligand olarak tanımlanmıştır (Kojima, 1999).

Ghrelinin hem insan hem de hayvan modellerinde, çok güçlü bir büyüme hormonu “Growth Hormone (GH)” salgılatıcı etkisi olduğu için, Hint-Avrupa dilleri ailesindeki grow (büyüme) sözcüğünün kökü olan “ghre” ile “relın” (salgılama) sözcüklerinden “ghrelin” adı türetilmiştir (Kojima, 1999; Aydın, 2006).

Ghrelin, serin kalıntılarından birinin hidroksil grubunun, n-oktanoik asitle açile edildiği ilk doğal hormondur. Bu açilasyon GHS-R yi bağlamak yani ghrelinin büyüme hormonu salgılatma kapasitesi ve aynı zamanda diğer hormonal aktiviteleri için gereklidir (van der Lely, 2004).

Ghrelin temel olarak mide tarafından üretilir. Ayrıca midenin yanı sıra hipotalamus, incebağırsak, böbrekler, kalp, santral sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar, immün sistem hücreleri, pankreasın alfa-beta-epsilon hücreleri, meme ve dişlerde de daha düşük miktarlarda sentezlenmektedir (Hattori, 2001; Horvath, 2001;Kojima, 1999).

Ghrelin ile ilgili yapılan çalışmalarda bu hormonun lipopolisakkarit ile indüklenmiş dolaşımdaki ve dokudaki IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuar sitokinlerin

seviyelerini önemli ölçüde azalttığı ve güçlü antienflamatuar aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Dixit, 2004; Vila, 2007). Yine yapılan çalışmalarda osteoblastların farklılaşmasını ve çoğalmasını indükleyerek kemik yapımını arttırdığı; alkalen fosfataz, osteokalsin, kollajen tip 1 salımını arttırdığı gösterilmiştir (Deng, 2008; Fukushima, 2005; Kim, 2005; Macarinelli, 2005).

Sistemik hastalıklarda kan ghrelin düzeyinin değerlendirildiği çalışmalarda ankilozan spondilit, crohn hastalığı, enflamatuvar bağırsak hastalığı gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda dolaşımdaki ghrelin düzeyinin arttığı; metabolik sendrom, tip 2 diyabet, obezite gibi metabolik hastalıklarda ise dolaşımdaki düzeyinin azaldığı rapor edilmiştir (Karmiris, 2008; Suematsu, 2005).

1.4.1. Ghrelinin Yapısı

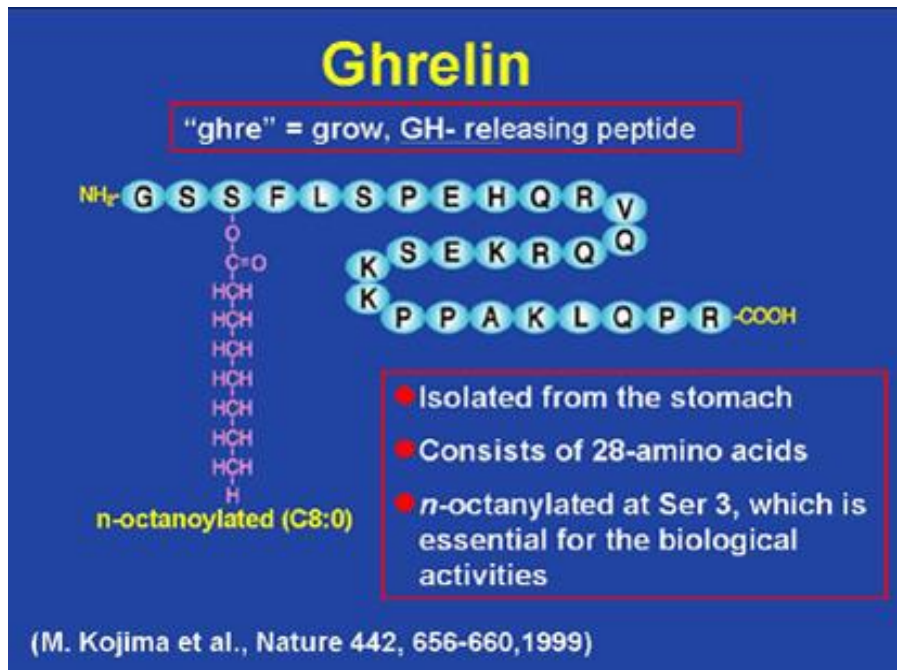
Ghrelin, ilk olarak sıçan midesinden izole edilmiş ve aminoasit dizilişi incelenmiştir. Sıçan ve insan ghrelin prekürsörü 117 aminoasitten oluşarak birbirlerinden sadece iki aminoasit bakımından farklılık gösterir. Preproghrelin olarak sentezlenen ghrelin prekürsörünün N terminalindeki sinyal peptidi 23 aminoasitten oluşurken, kuyruk kısmında 94 aminoasitten oluşan proghrelin bulunmaktadır (Kojima, 2005; Casanueva ve Dieguez, 2002; Pemberton, 2003). Proghrelin ise 28 aminoasit matür ghrelin ve 66 aminoasit kuyruk peptid içerir (Bednarek, 2000). Yani ghrelin etkin yapı olarak 28 aminoasitten oluşan bir peptiddir (Kojima, 1999).

Ghrelin aminoasit uzunluğuna göre ghrelin (1-28) ve ghrelin (1-27) olmak üzere 2 gruba ve Ser3'teki açilasyonun tipine göre dört gruba (açillenmemiş, oktanoillenmiş, dekanooillenmiş ve muhtemel dekenoillenmiş) ayrılmıştır.

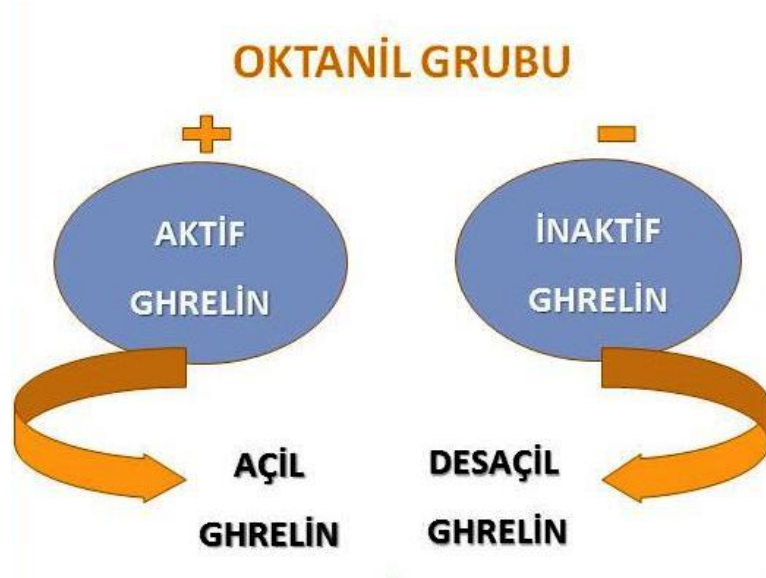
İnsan ghrelin geni kromozom 3p25-26 üzerinde, reseptör geni ise 3. kromozomda pozisyon q26-27'de lokalizedir (Smith, 1997).

1.4.2. Açıl ve Desaçıl Ghrelin

Ghrelin 298 aminoasitten oluşup, N-terminal ucunda 3. Aminoasit olan serine bağlı, oktanil grubu adı verilen 8 karbonlu bir yağ asidi içerir (Howard, 1996; Hosoda, 2002) (Şekil 1.2). Ghrelin, bu oktanil grubunun olup olmamasına göre biyoaktif ve non-biyoaktif olmak üzere 2 şekilde bulunur (Şekil 1.3). Oktanil grubu içeren ghrelin biyoaktif yani açillenmiş ghrelindir. Oktanil grubu içermeyen ghrelin ise desaçıl ghrelindir. Desaçıl ghrelin dolaşımdaki toplam ghrelinin %80-90' ını oluşturmaktadır (Aydın, 2006). Ancak herhangi bir endokrin fonksiyonunun olmadığı gösterilmiştir (Bednarek, 2000; Date, 2000). Ghrelin bir yağ asidi tarafından aktivitesi değiştirilen tek peptid hormondur (Aydın, 2006).



Şekil 1.2. Açıl ghtelin oluşumu



Şekil 1.3. Oktanil Grubuna Göre Ghrelin

Açıl ve desaçıl ghrelin arasındaki ilişki henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Her iki formda plazmada ve midede bulunur. Her iki formun da aktif olduğu, benzer ve karışık fonksiyonlar sergilediği gösterilmiştir. Bu konuda 2 teori gündeme gelmiştir: 1) desaçıl ghrelin açılasyonun tam anlamıyla gerçekleşmemesi sonucu oluşur ve her iki formu da iki ayrı regülatör yol aracılığıyla salgılanır. 2) desaçıl ghrelin, ghrelin nolekülünün deaçilasyonu sonucu oluşur (Nishi, 2005).

Ghrelinin plazmadaki konsantrasyonu 200-600 nanogram/litredir. Bunun %80'i desaçile ghrelindir (Ariyasu, 2001). Açıl ghrelinin in vivo yarı ömrü kısadır, total ghrelinin ise yarı ömrü yaklaşık 27-31 dakika arasındadır. Desaçıl ghrelin dolaşımda serbest peptid şeklinde bulunurken, açıl ghrelinin büyük bir kısmı lipoproteinler gibi büyük moleküllere bağlı olarak bulunur (De Vriese, 2007) .

Desaçıl ghrelin ghrelinin karaciğer veya pankreastaki metabolik etkisini modüle edebilir. Bu etkisini doğrudan ghrelin ve desaçıl ghrelinin paylaştığı reseptör üzerinden veya indirekt olarak desaçıl ghrelince spesifik reseptör aracılığıyla gerçekleştirir. Desaçıl ghrelin, konsantrasyona bağlı olarak ghrelin aktivitesini güçlendirebilir. Veya GHS-R'ye antagonist etki göstererek ghrelin cevabını bloke edebilir (Gauna, 2007) . Yapılan çalışmalarda ghrelin uygulamasının hiperglisemi,

hipoinsülinemi, dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin artması ve insülin sensitivitesinin kötüleşmesi gibi durumlara yol açtığı, fakat desaçıl ghrelinle birlikte uygulanmasıyla bu etkilerinin önlenebildiği veya geri döndürülebildiği bulunmuştur. Bu etkilerin ghrelinin metabolik aktivitesine spesifik olduğu düşünülmektedir. Çünkü desaçıl ghrelin GH, prolaktin veya adrenokortikotropin hormonunun açıl ghreline cevabı üzerine etki etmez. Ancak açıl ghrelinin insülin sekresyonu ve glikoz seviyesi üzerine etkisini antagonize edebilir (Broglia, 2004).

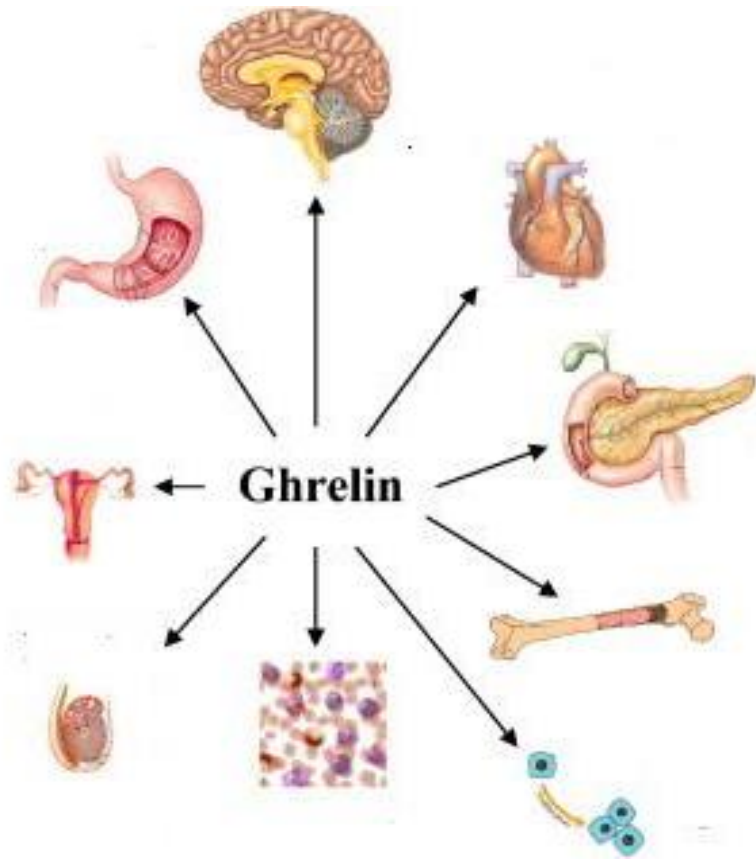
1.4.3. Ghrelinin Dokulardaki Dağılımı

Ghrelin hormonu ilk olarak mide fundusundan izole edilmiştir (Kojima, 1999). Mide endokrin hücrelerinden immünoglobulin A yönünden zengin olanların %20'si ghrelin mRNA'sı içermektedir. Ghrelin asıl olarak midenin fundus kısmındaki X/A benzeri hücrelerde sentezlenmektedir. Ayrıca mide pilorik kısmında da az miktarda sentezlendiği gösterilmiştir (Kojima, 1999; Kojima, 2005; Korbonits, 2004). Yaklaşık %30'luk bir kısmın ise ince bağırsaktan üretildiği düşünülmektedir (Ariyasu, 2001; Korbonits, 2004). Bağırsaklardaki ghrelin konsantrasyonu duodenumdan kolona doğru kademeli olarak azalmaktadır (Date, 2000).

Midedeki ghrelin hücreleri oval ya da yuvarlak şekillidir ve lümeninden ziyade kapiller alana yakın pozisyonlanmıştır, bu da ghrelinin tüm vücudu dolaştığını gösterir (Korbonits, 2004). Dolaşımdaki ghrelin konsantrasyonunun midenin asit üreten bölümünün cerrahi olarak uzaklaştırılması sonucu %80 oranında azaldığı tespit edilmiştir, bu da oksinrik mukozanın ghrelinin majör kaynağı olduğunu gösterir (Dornonville, 2004). Benzer bir şekilde insanlarda da total gastrektomiye takiben ghrelin seviyelerinde düşüş gözlenmiştir (Leonetti, 2003).

Ghrelin, lateral hipotalamus, arkuat nukleus, ventromediyal nukleus, dorsomediyal nukleus, paraventriküler nukleus ve 3. Ventrikülün ependimal tabakasındaki çekirdekler arası boşlukta da tespit edilmiştir (Cowley, 2003). Pankreas bir diğer ghrelin üreten organdır. Hem ghrelinin hem de desaçıl ghrelinin rat pankreaslarında

üretildiği tespit edilmiştir (Date, 2002). Yine hipofiz bezinde de ghrelin varlığı gösterilmiştir (Kojima, 2005). Böbrekte özellikle glomerüler alanda ghrelin mRNA'sı tespit edilmiştir (Gnanapavan, 2002). Ayrıca kalp ventriküllerinde de ghrelin varlığı gösterilmiştir (Huang, 2009). Kondrositlerde de ghrelin sentezinin ve sekresyonunun olduğu gösterilmiştir (Caminos, 2002). Ghrelinin tükürük bezindeki varlığı immunohistokimyasal yöntemle tespit edilmiştir (Aydın, 2005). Plasenta, yumurtalıklar, testisler, akciğerler ve immun sistem hücrelerinden de ghrelin salgılandığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Hattori, 2009) (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Ghrelinin Dokulardaki Dağılımı

1.4.4. Ghrelinin Fizyolojik Fonksiyonları

1.4.4.1. GH Salgılatıcı Aktivitesi

Ghrelin güçlü, doza bağlı ve GHS-r1a'ya bağımlı GH salgılatıcı aktiviteye sahiptir (Kojima, 1999). Ghrelin hem in vivo hem in vitro olarak GH salımını uyarır. Ghrelinin intravenöz enjeksiyonu hem insanlarda hem de ratlarda GH salımını indüklemiştir. Anestezi altındaki ratlara GH enjeksiyonu sonrasında 5-15 dakika içerisinde pik yaptığı, 1 saat içerisinde tekrar bazal seviyesine döndüğü gösterilmiştir. Ghrelinin aynı zamanda tavuk, balık, kurbağa gibi memeli olmayan omurgalı hayvanlarda da GH salımını indüklediği gösterilmiştir. Bütün bu deneyler sonrasında ghrelinin potansiyel bir GH sekretörü olduğu onaylanmıştır (Kojima, 2005).

1.4.4.2. ACTH Salgılatıcı Aktivitesi

GHS ve ghrelin primer olarak rat hipotalamusundaki arjinin-vazopresini direkt uyararak ve kortikotropin stimüle edici hormonun salımını arttırarak hipofiz hücrelerinden ACTH salımını etkilemektedir (Penalva, 2001). Ghrelinin minimum doz uygulamasıyla ACTH, prolaktin ve kortizol seviyelerinde artış olduğu görülmektedir (Takaya, 2000).

1.4.4.3. Beslenme Üzerine Etkisi

Beslenme yaşamak için gerekli olan temel bir davranıştır. Açlık beyin tarafından kontrol edilir ve beslenme davranışı, özellikle hipotalamus olmak üzere, santral sinir sisteminde kompleks mekanizmalar aracılığıyla düzenlenir (Druce, 2003; Schwartz, 2000; Vettor, 2002). Yakın dönem çalışmalarında, açlığı düzenleyen humoral faktörlerin tanımlanmasından sonra, bu düzenleyici mekanizmaların sadece santral sinir sisteminde olmadığı, aynı zamanda periferik dokulardan salgılanan faktörler

aracılığıyla da düzenlendiği bulunmuştur (Kojima, 2005; Neary, 2004; Ukkola, 2004; Wynne, 2004).

İmmünohistokimyasal çalışmalarda ghrelin içeren hücrelerin hipotalamusta, açlığın kontrol edildiği bölgede olduğu gösterilmiştir (Kojima, 1999; Lu, 2002). Bu bulgu ghrelinin yiyecek alımının kontrolünde rol oynadığını düşündürmektedir (Kojima, 2005).

Ratların beyin ventriküllerine ghrelin enjekte edildiği zaman besin alımları uyarılır (Nakazato, 2001; Wren, 2001). Sadece intracerebroventriküler enjeksiyon değil aynı zamanda ghrelinin intravenöz ve subkutanöz enjeksiyonu da besin alımını artırır (Nakazato, 2001; Tschop, 2000). Ghrelin gastrointestinal sistem organlarından açlığa cevap olarak üretilir ve kanda dolaşarak beslenmeyi uyarmak için santral sinir sistemine periferel sinyal gönderir (Kojima, 2005).

1.4.4.4. Vagal Etkileri

Yapılan çalışmalarda vagal efferent nöronlarda ghrelin reseptörlerinin sentezlendiği bulunmuştur. Bu bulgu ghrelinin mideden beyine vagus siniri aracılığıyla taşındığını düşündürmektedir (Date, 2002; Zhang, 2004). Vagotomi ile ghrelinin yiyecek alımını ve GH salımını artırıcı etkisinin engellenebildiği bulunmuştur (Date, 2002; Andrews, 2002) . Fakat vagotomiden sonra ghrelin konsantrasyonunun bazal seviyeleri etkilenmemektedir. Bu sonuçlar ghrelinin vagus sistemini aktive edebildiğini kanıtlar niteliktedir (Kojima, 2005).

1.4.4.5. Hücre Farklılaşması Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmalar ghrelinin hücre çoğalması ve farklılaşması üzerine etki edebileceğine dikkat çekmektedir. Hücrenin tipine bağlı olarak, ghrelin hücre büyümesini uyurabileceği gibi inhibe de edebilir (Xu, 2008). Ghrelinin

proosteoblastlar nöronal prekürsörler, preadipositler ve kardiyomiyositler üzerine mitotik etkisinin olduğu gösterilmiştir (Kim, 2005; Maccarinelli, 2005; Pettersson, 2002; Sato, 2006). Ghrelinin, osteoblastlar, adipositler ve miyositlerin, kök hücrelerinden farklılaşma aşamasına etki ettiği düşünülmektedir.

1.4.4.6. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Ghrelini ve reseptörünü kodlayan mRNA ekspresyonunun kalpte ve aortada gözlenmesi ghrelinin kardiyovasküler bir fonksiyonu olduğuna kanıt niteliğindedir (Li, 2006). Aterosklerotik damarlarda ghrelinin bağlanma miktarının arttığı bulunmuştur (Van der Lely, 2004). Ghrelin kardiyovasküler dokularda, dolaşım homeostazının sağlanmasında önemli otokrin-parakrin fonksiyonlara sahiptir.

1.4.4.7. Otonom Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

Ghrelin sempatik aktiviteyi önleyerek damarlarda vazodilatasyona ve kan basıncının düşmesine sebep olur (Kojima, 2005; Korbonits, 2004). Gastrointestinal sistemdeki parasempatik aktivite üzerine ise uyarıcı etki göstermektedir (Date, 2002). Bu şekilde gastrik asit sekresyonunu ve gastrik hareketliliği artırır (Masuda, 2000).

1.4.4.8. Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri

Ghrelin ilk kez mide dokusunda keşfedilmiştir ve ghrelinin intravenöz olarak verilmesi doza bağlı olarak gastrik asit sekresyonunu arttırdığı ve mide hareketliliğini stimüle ettiği gösterilmiştir (Dornonville, 2004; Masuda, 2000). Gastrektomi yapılan ratlarda dolaşımdaki ghrelin konsantrasyonunun %80 oranında azaldığı gösterilmiştir (Dornonville, 2001; Date, 2000; Van der Lely, 2004).

1.4.4.9. Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

Endometriyumda ghrelin ekspresyonu olduğu gösterilmiştir ve embriyonik implantasyonda bu hormonun parakrin ve otokrin bir rolü olduğu düşünülmektedir (Kojima, 2005).

Ghrelin plasentada sentezlenmektedir ve fetal büyümede rolü olabileceği düşünülmektedir. Merkezi olarak ghrelin uygulaması dişi ratlarda lüteinleştirici hormon (LH) salgı düzenini değiştirmektedir (Korbonits, 2004; Caminos, 2003). Ghrelin insan ovaryumunda ve testislerin Leydig hücrelerinde de eksprese edilmektedir (Gaytan, 2003; Barkan, 2003)

1.4.4.10. İskelet ve Kas Sistemine Etkileri

Fundus hücrelerinin kaybedilmesi beraberinde ghrelin ve kemik doku kaybını da getirmektedir (Aydın, 2006). Gastrektomi ile artmış kemik doku kaybı ghrelin sentezleyen endokrin hücrelerinin yokluğundan ileri gelebilir. Ratlarda ghrelin, osteoblastların proliferasyon ve farklılaşmasını uyarır (Fukushima, 2005).

1.4.4.11. Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkileri

Ghrelinin glikoz homeostazı üzerine etkisi ilk kez Broglio ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Bu çalışmada açıl ghrelin uygulamasının sağlıklı kişilerde, glisemide akut ve önemli bir artışa, dolaşımdaki insülin seviyesinde ise geçici bir düşüşe neden olduğu bulunmuştur (Broglio, 2003). Ancak desaçıl ghrelinin aynı etkilere neden olmadığı tespit edilmiştir (Gauna, 2007).

1.4.4.12. Yağ Dokusu Üzerine Etkileri

Ghrelin adipogenezis proçesinde de önemli rol oynayabilir. Hem açıl hem de desaçıl ghrelin rat kemik iliğine enjekte edildiğinde adipogenezisi kolaylaştırır. Bunun yanı sıra devamlı açıl ghrelin enjeksiyonunun adipoz doku dışında da lipit metabolizmasını etkilediği bulunmuştur (Barazzoni, 2005). Ayrıca ghrelinin kemik iliğine enjekte edildiğinde spesifik olarak yağ hücre çoğalmasını uyardığı tespit edilmiştir (Thompson, 2004). Adiponektin ekspresyonunun ghrelin tedavisiyle inhibe edildiği gösterilmiştir (Ott, 2002). Bu da ghrelinin adipogenez proçesinde önemli rol oynayabileceğini destekleyen bir bilgidir.

1.4.4.13. Diğer Endokrin Hormonlar Üzerine Etkileri

İnsanlarda ghrelin uygulaması sonrasında doza bağımlı olarak GH düzeyinde önemli bir artış olmaktadır. ACTH, kortizol ve prolaktin seviyelerinde minimum doz uygulamasıyla bir artış olmakla beraber folikül stimüle edici hormon (FSH), lüteinleştirici hormon (LH) ve tiroid stimüle edici hormon (TSH) düzeylerinde herhangi bir değişiklik görülmemiştir (Takaya, 2000).

1.4.4.14. Uyku Üzerine Etkileri

Hem GHS hem de ghrelinin insanlarda uykuyu desteklediği gösterilmiştir. Ghrelin yavaş dalga uykusunu artırır (Copinschi, 1997; Frieboes, 1995; Obal, 2003; Weikwl, 2002).

1.4.4.15. Davranışsal Etkileri

Ghrelinin ratlar üzerinde düşük oranda uygulanmasının anksiyeteyi arttırdığı ve hafızayı geliştirdiği gösterilmiştir (Carlini, 2002). Ghrelinin periferik enjeksiyonu

hipotalamusta kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) ekspresyonunu arttırmış ve anksiyete artışına sebep olmuştur (Asakawa, 2001). Bu bulgular ghrelinin strese karşı davranışsal cevapta ve nöroendokrin sistemde bir rol oynayabileceğini gösterir (Korbonits, 2004).

1.4.5. Ghrelin Düzeyini Etkileyen Faktörler

1.4.5.1. Açlık ve Besin Alımı

Endojen ghrelin seviyeleri akut ve kronik beslenme durumlarına göre değişir. Açlık ghrelin seviyesinin artışına neden olurken, yemek alımından hemen sonra ghrelin düzeyinde düşüş gözlenir. Yemek alımı sonrası en düşük seviyeye 60-120 dakika arasında ulaşır (Ariyasu, 2001; Cummings, 2001; Cummings, 2002; Tschop, 2000). Yemek sonrası ghrelin baskılanmasının alınan kaloriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Callahan, 2004; Aydın, 2006). Açlıkla birlikte mide ghrelin ekspresyonu artar fakat hipotalamus ve hipofiz ghrelin ekspresyonu değişmez (Torsello, 2003). 3 günlük uzun süren açlık sonrasında ghrelin seviyelerinin başlangıça oranla önemli derecede değişmediği gösterilmiştir (Chan, 2004).

Açlık ghrelin seviyeleri obez bireylerde normal bireylere göre daha düşüktür. Vücut kütle indeksi (BMI) daha düşük olan anoreksiya nevroza gibi hastalıklarda ghrelin seviyeleri daha yüksektir (Ariyasu, 2001; Shiiya, 2002; Tschop, 2001). Serebrospinal sıvıdaki ghrelin seviyeleri BMI ile negatif korelasyon gösterir (Tritos, 2003). Obez bireyler kilo kaybettiklerinde ghrelin seviyelerinde artış gözlenirken, anoreksiya nevrozalı hastalar kilo aldıklarında ghrelin seviyeleri düşer (Otto, 2001; Ravussin, 2001).

1.4.5.2. Glikoz ve Diyet

Kandaki glikoz seviyesinin ghrelin düzeylerini etkilediği düşünülmektedir. Oral ya da intravenöz olarak glikoz verilerek hiperglisemi oluşturulan hastalarda plazma ghrelin seviyelerinin baskılandığı bulunmuştur (Nakagawa, 2002). Yüksek yağlı beslenme ghrelin seviyeleri üzerine inhibitör etki gösterirken, düşük proteinli beslenme ghrelin düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (Beck, 2002). İnsanlarda yüksek karbonhidratlı beslenmenin, yüksek yağ oranlı beslenmeye göre ghrelin seviyelerini daha çok düşürdüğü gösterilmiştir (Weigle, 2003).

1.4.5.3. İnsülin Hormonu

İnsülinin ghrelin düzeylerini inhibe ettiği gösterilmiştir (Leonetti, 2004). Dereceli olarak hiperinsülinemi oluşturulan bireylerde normal glisemi esnasında ghrelin seviyelerinde düşüş gözlenmiştir (Anderwald, 2003). Normoglisemi halinde oluşturulan hiperinsülineminin ghrelin seviyelerini düşürmesi insülinin ghrelin seviyelerinin düzenlenmesinde bir rolünün olabileceğini düşündürmektedir (McCowen, 2002). İnsülin, direkt olarak ghrelin sekrete eden hücreleri etkileyerek veya diğer nöral ve hümmoral mekanizmalar aracılığıyla ghrelin salımını azaltır. Açlık durumunda insülin azalması sonucu ghrelin konsantrasyonu artar ve beslenmeyi takiben insülin salımı plazma ghrelin seviyesinin baskılanmasına neden olur (Saad, 2002).

1.4.5.4. Leptin ve Diğer Hormonlar

Ghrelinin açlığı ve besin alımını arttırması ve adipositeyi indüklemesi, leptine karşıt bir etkisinin olduğunu gösterir. Leptin uygulamasının farelerde gastrik ghrelin mRNA' sını arttırdığı gösterilmiştir (Ariyasu, 2002). Rat hipotalamusundaki leptin transgen ekspresyonunun dolaşımdaki ghrelin seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir (Torsello, 2003).

Fizyolojik ve farmakolojik dozlarda leptin uygulanan 6 sağlıklı bireyde takip eden günlerde ghrelinin etkilenmediği gözlemlenmiştir. Leptinin ghrelin düzenlenmesindeki bu etkisizliği enerji homeostazisinde ghrelinin leptini uyarmadığı anlamına gelebilir (Chan, 2004).

Somatostatin ve analogları normal bireylerde ghrelin sekresyonunu inhibe etmektedir (Schaller, 2003; Barkan, 2003; Broglio, 2002). Tiroid hormon eksikliği, gastrik ghrelin mRNA'sında ve dolaşımdaki ghrelin seviyelerinde artışa sebep olmaktadır (Caminos, 2002). Hipogonadizmlili erkeklerde testosteron eksikliğinin ghrelin seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Pagotto, 2003).

1.4.5.5. Cinsiyet

Cinsiyetin ghrelin düzeyini etkilemediğini bildiren çalışmaların yanı sıra kadınlarda, daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Purnell, 2003; Barkan, 2003). Menopozal durumun ghrelin seviyesine etkisine yönelik yapılan çalışmaların bir kısmında menopozla ghrelin seviyesi arasında bir ilişki bulunamazken, perimenopozal dönemde, pre- veya postmenopozal döneme kıyasla ghrelin düzeyinin daha yüksek olduğunu belirten çalışmalarda vardır (Purnell, 2003; Sowers, 2008). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, dişi sıçanlarda daha yüksek plazma ghrelin seviyeleri ve midede yüksek ghrelin mRNA ekspresyonu olduğu bulunmuştur (Gualillo, 2001). İnsanlarda yapılan bir çalışmada plazma ghrelin seviyeleri kadınlarda yüksek bulunmuş ancak BMI arasındaki farklılıklar giderildiğinde bu bulgunun ortadan kalktığı görülmüştür (Chan, 2004).

1.4.5.6. Yaş

Yaşla ghrelin düzeyleri arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını gösteren çalışmalarla birlikte, plazma ghrelin seviyesinin yaşla pozitif yönde veya negatif korelasyon gösterdiğini bulan çalışmalar da mevcuttur (Purnell, 2003; Shiiya, 2002).

Yaşın ghrelin üzerine bağımsız bir faktör olup olmadığı açık değildir. Purnell (2003) BMI, insülin duyarlılığı, vücut kompozisyonu, HDL, cinsiyet, insülin ve vücuttaki yağ dağılımı ile ilgili faktörlerle yaptığı çoklu regresyon analizlerinde yaşın bağımsız bir faktör olduğunu bildirmiştir.

1.4.5.7. Obezite

Obez bireyler zayıf bireylere göre daha düşük ghrelin seviyelerine sahiptir (Tschop, 2001). Kilo kaybıyla birlikte dolaşımdaki ghrelin seviyeleri artar (Cummings, 2002; Hansen, 2002). Bu bilgi ghrelinin vücut ağırlığına bağlı olduğunu fakat yağ ağırlığına ya da yağ dağılımına bağlı olmadığını destekler (Purnell, 2003). Obezite düşük GH ve ghrelin seviyesi ile karakterizedir, ancak yapılan çalışmalara göre bu iki parametre arasında nedensel bir ilişki yoktur (Korbonits, 2004; Lindeman, 2002; Murdolo, 2003). Yapılan bir çalışmada obez bireylerde gıda alımını takiben ghrelin düzeylerinde belirgin bir azalma olmadığı, düzensiz bir ghrelin salımının bulunduğu bildirilmiştir (Ukoki, 2001). Ayrıca obez bireylerde insülin ve leptin düzeylerindeki artışın, ghrelin düzeylerinde azalmaya yol açmasının insülin ve leptin ile ghrelin arasında negatif bir ilişkinin varlığının göstergesi olabileceği öne sürülmüştür (Bellone, 2002).

1.4.5.8. Gebelik

Gebeliğin ilk trimestrinde ghrelin seviyesi yüksek iken, ikinci trimestrinde düşük bulunmuştur (Aydın, 2006; Korbonits, 2004). Bebeğin kordon kanındaki ghrelin düzeyi anne kanından daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca zamanında doğan bebeklerin erken doğan bebeklere göre daha yüksek ghrelin düzeyine sahip olduğu görülmüştür (Aydın, 2006; Bellone 2004).

1.4.6. Ghrelin Hormonuyla İlişkili Hastalıklar

1.4.6.1. Polikistik Over Sendromu (PKOS)

PKOS'lu hastalarda ghrelin düzeyi ile ilgili yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Bir çalışmada PKOS'lu bireylerde kontrol grubuna göre daha yüksek ghrelin düzeyi tespit edilmişken (Wasko, 2004), başka bir çalışmada fark bulunamamıştır (Orio, 2003). PKOS'lu hastalarda ghrelin düzeyinin sağlıklı zayıf veya obez bireylerden daha düşük seviyede olduğu gösterilmiştir (Schofl, 2002).

1.4.6.2. Diabetes Mellitus

Streptozosin ile oluşturulmuş diabetes mellituslu ratlarda yüksek ghrelin seviyeleri tespit edilmiş ve daha sonra insülin verilmesi ile ghrelinin normal düzeye indiği gösterilmiştir (Aydın, 2006). Tip 2 diabeti olan hastalarda ghrelin seviyeleri düşük bulunmuştur. Yine düşük ghrelin seviyeli bireylerde yüksek açlık insülini olduğu tespit edilmiştir (Poykko, 2003).

1.4.6.3. Hipertansiyon

Gebelerde ve normal popülasyon taramalarında vücut kütle indeksinden bağımsız olarak yüksek kan basıncı ile düşük ghrelin seviyeleri arasında ilişki bulunmuştur (Korbonits, 2004; Kojima, 2005). Benzer olarak insan çalışmalarında ghrelin enjeksiyonunun damarlarda genişlemeye neden olarak kan basıncını düşürdüğü bildirilmiştir (Nagaya, 2001; Aydın, 2006) .

1.4.6.4. Akromegali

Akromegalili bireylerde ghrelin seviyeleri bazı çalışmalarda düşük, bazı çalışmalarda normal bulunmuştur (Aydın, 2006). Akromegalili hastalarda somatostatin analogları ile tedavi sonrasında ghrelin seviyeleri düşmektedir. Akromegalililerde ghrelin seviyelerinde izlenen bu düşüş yükselmiş GH ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) düzeylerine bağlı olabilir (Kojima, 2005).

1.4.6.5. Hipo-Hipertiroidizm

Ghrelin seviyeleri hipertroidizmde düşük, tirotoksik hastalarda ise daha düşük ve antitiroid tedavi ile elde edilen ötroid durumunda ise normal düzeylerine çekilebilmektedir (Riis, 2003). Burada ghrelin üzerinde direk olarak tiroid hormonlarının etkili olduğu düşünülmektedir.

1.4.6.6. Diğer Hastalıklar

Ghrelin hormonu bazı nöroendokrin gastrointestinal tümörlerde tespit edilmiştir. Metastatik pankreas tümörlü bir hastada ghrelin seviyesinin 50 kat arttığı tespit edilmiştir (Corbetta, 2003; Tsolakakis, 2004).

Helicobacter pylori enfeksiyonlarında ghrelin seviyelerinde düşüş bulunmuştur (Shiotani, 2005).

İleri dönem siroz hastalarında ghrelin düzeyleri yüksek bulunmuştur (Tacke, 2003).

Non-alkolik hepatosteazda ghrelin seviyeleri düşük bulunmuştur (Marchesini, 2003).

Çölyak hastalarında yüksek bulunan ghrelin seviyeleri glutensiz beslenme ile düşürülmüştür (Peracchi, 2003).

Enflamatuvar bağırsak hastalığı, ülseratif kolit ve Crohn's hastalığı gibi immünolojik rahatsızlıklarda serum ghrelin konsantrasyonunun arttığı rapor edilmiştir (Karmiris, 2008).

Şiddetli romatoid artrit (RA) hastalarında TNF- α blokajının dolaşımdaki ghrelin konsantrasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Gonzalez-Gay, 2008).

Uyku apneli hastalarda yüksek bulunan ghrelin seviyeleri tedaviyi takiben düşürülmüştür (Harsch, 2003).

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda serum ghrelin seviyeleri sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulunmuştur (Hansen, 2002).

HIV hastalarında düşük ghrelin seviyeleri tespit edilmiştir (Korbonits, 2004).

Kronik alkol kullanan bireylerde serum ghrelin seviyeleri alkol kullanmayan bireylere göre daha yüksek bulunmuştur (Kim, 2005).

1.4.7. Ghrelin ve İmmün Sistem

İmmün sistem hücreleri metabolizmadaki değişimlere karşı çok hassastır. İmmün hücreler çevrelerindeki değişimlere karşı hassas olabilir ve dolaşımdaki immün cevabı ve sitokin ekspresyonunu etkileyen hormon seviyelerindeki artma ve azalmalardan etkilenirler (O'Connor, 2008; Patel ve Taub, 2009; Steinman, 2004; Taub, 2008). Enflamasyon boyunca ya da yara iyileşmesine cevap aşamasında üretilen proenflamatuvar sitokinler ve immün-kaynaklı büyüme faktörleri de vücutta hormon salımını etkileyen mesajlar iletirler. Yapılan çalışmalarda hem sistemik hem doku ilişkili ghrelinin, GHR-S proteini ve mRNA ekspresyonunun akut ve kronik enflamasyonun evreleri boyunca düzenlendiği gösterilmiştir. Bunun sonucunda serum ve plazmadaki ghrelin salımındaki artış hastalık şiddetiyle ilişkili bulunmuştur. Ayrıca ghrelin seviyeleri özellikle TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi

enflamasyonun klasik belirteçleri olan proenflamatuvar sitokinlerin salımıyla ilişkili bulunmuştur (Hattori, 2009; Smith, 2005; Taub, 2010).

Serum ya da plazmadaki ghrelin seviye artışı ülseratif kolit, Crohn hastalığı, ankilozan spondilit, sepsis, pankreatit ve romatoid artrit gibi birçok enflamatuvar hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Hattori, 2009; Katargari, 2008; Kerem, 2007; Maruna, 2005; Otero, 2004; Taub, 2007; Taub, 2010; Toussiro, 2007). İntraabdominal sepsiste hem ghrelin hem de leptin seviyelerinin, hem inflamatuvar sitokinle hem de C-reaktif proteinle pozitif korelasyon göstererek arttığı bulunmuştur (Maruna, 2005). Endotoksin ve TNF- α ghrelin seviyelerini arttırabileceği gibi baskılayabildiği de gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada serum ghrelin seviyeleri romatoid artritli bireylerde daha düşük bulunmuştur (Otero, 2004). Total ghrelin konsantrasyonunun kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan bireylerde TNF- α ve C-reaktif protein ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (Luo, 2005).

Genel olarak ghrelin seviyesinin enflamasyon durumunda arttığı söylenebilir. Ancak ghrelin konsantrasyonundaki bu artış enflamasyonun nedeni mi yoksa sonucu mu sorusu henüz netlik kazanmamıştır (Hattori, 2009).

Bakteriyel LPS gram negatif bakterilerin hücre duvarında yer alır, monositler ve B hücreleri üzerine etki ederek akut faz cevabının oluşmasına ve aşırı miktarda IL-1 β , IL-6 ve TNF- α üretimine neden olur. Ghrelin LPS ile indüklenmiş endotoksemide, dolaşımdaki ve dokudaki bu proenflamatuvar, sitokinlerin seviyelerini azaltarak güçlü antienflamatuvar etki gösterir (Dixit, 2004). Akut LPS enjeksiyonu ghrelinin serum konsantrasyonunun azalmasına neden olurken, LPS verilmesinden 24 saat sonra veya devamlı LPS verilmesi sonucu serum ghrelin konsantrasyonunda artış olduğu gözlenmiştir (Dixit, 2004; Granado, 2005).

Ghrelinle ilgili yapılan araştırmalarda GHS-R'nin çeşitli immün hücre alt gruplarında bulunması, bu peptidin immün hücre alt grupları üzerine immünomodülatör etkisinin de olabileceği hipotezini ortaya çıkarmıştır (Dixit, 2004; Dixit, 2005).

İnsan T lenfositlerinin preproghrelin salımı yapabildiği, açıl ve desaçıl ghrelin üretebildiği bulunmuştur (Dixit, 2004). Farelerde, ghrelinin doza bağlı olarak dalak T hücre çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Ghrelin reseptörünün dalak T lenfositlerindeki varlığı ve T hücre sitokin üretimini etkilemesi, bu hormonun lenfosit üretimi ve çoğalması üzerine fonksiyonel bir role sahip olduğunu kanıtlar niteliktedir (Xia, 2004).

Ghrelin, proenflamatuvar sitokinlerin yanı sıra dalak T lenfosit çoğalmasını da inhibe eder. Ghrelinin güçlü antienflamatuvar aktivitesine bağlı olarak sistemik enflamatuvar cevapta da önemli derecede azalma olduğu tespit edilmiştir (Konturek, 2009).

1.4.8. Ghrelin ve Kemik Metabolizması

Ghrelinin kemik yoğunluğunu koruma etki mekanizmalarından biri GH ile kemik arasındaki ilişkiye dayanır. Ghrelin, GH salımını uyarak kemik metabolizmasını etkileyebilir. Diğer bir mekanizma ise ghrelinin vücut kütlesini ve kompozisyonunu etkileyerek kemiğin korunmasına yardımcı olmasıdır (Weiss, 2006).

Bunun yanı sıra kemik hücrelerinin ghrelin kaynağı olması, sitokinler, büyüme faktörleri, prostoglandinler (PG) ve nitrik oksit gibi lokal faktörler aracılığıyla otokrin veya parakrin yolla da kemik dokusu üzerine etkisinin olabileceğini düşündürmektedir (Maccarinelli, 2005).

1.4.9. Ghrelin ve Periodontal Hastalık

Son yıllarda yapılan çalışmalar ghrelinin sadece endokrin fonksiyonlarının olmadığını, antienflamatuvar, antioksidan etki gibi farklı etkilerinin de olduğunu göstermektedir (Li, 2004; Obay, 2008). Ghrelinin proenflamatuvar sitokin ve kemokin üretimini inhibe ettiği ve enflamatuvar hücre büyümesini baskıladığı

bilinmektedir (Koca, 2008). Ghrelinin LPS ile indüklenmiş enflamasyonu baskıladığı, aynı zamanda doza ve zamana bağlı olarak TNF- α , IL-1 β gibi sitokinlerin üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir (Waseem, 2008).

Ghrelinin LPS ile indüklenmiş enflamasyonda IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler üzerine güçlü inhibitör etki göstermesi, antioksidan etkinliğinin olması, bu hormonun immün cevabın ve konak defans mekanizmasının bir parçası olduğunu düşündürmektedir (Obay, 2008; Vila, 2007; Dixit, 2004; El Eter, 2007). Ayrıca osteoblastlar üzerine farmakolojik ve fizyolojik koşullarda antiapoptotik etki etmesi ve osteoblastların farklılaşmasını ve çoğalmasını stimüle etmesi, osteoblastların yaşam döngüsü üzerine modüle edici etkisinin olduğu kanıtlar niteliktedir (Kim, 2005). Bu bağlamda, ghrelinin proenflamatuvar sitokin artışıyla ve kemik kaybıyla ilişkili periodontal hastalık patogenezinde de rol oynayabileceği akla gelmektedir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, sağlıklı ve periodontitisli hastalar arasında ghrelin ile periodontal parametreler, serum sitokinleri ve kemik döngüsü belirteçleri arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve total ghrelin ile açile ghrelin seviyeleri periodontitisli grupta sağlıklı gruba göre daha yüksek bulunmuştur (Yılmaz, 2014).

Planladığımız bu çalışmada amaç puberte öncesindeki, pubertedeki, erişkin dönemdeki ve menopoza dönemindeki ratlarda ligatürle periodontitis oluştuktan sonra periodontitis öncesi ve sonrası dolaşımdaki enflamatuvar reaksiyon ürünleri ve ghrelin seviyelerini sağlıklı kontrol grubundakilerle karşılaştırmaktır. Böylelikle yaşam döngülerinin farklı noktalarında bulunan ve dolayısıyla dolaşımdaki cinsiyet hormonlarının farklı seviyelerde bulunduğu (prepuberte, puberte, erişkin, menopoza) dişi ve periodontitisli ratlarda enflamatuvar cevap ve kemik metabolizması ile ghrelin ilişkisini ortaya koymak hedeflenmektedir.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Deney Hayvanları

Bu araştırma, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 02.04.2012 tarih ve 44-6866 sayılı etik kurul onayı alındıktan sonra, hayvan deneyleri Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM)' da, ELIZA testleri ise Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi biyoteknoloji laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmaya, 10 adet prepubertal, 10 adet pubertal, 10 adet erişkin, 10 adet postmenopozal dönemde olan toplam 40 adet dişi Wistar rat ile başlanmıştır. Prepuberte dönemindeki ratlar 3 haftalık ve ortalama 90-100 gr ağırlığında, puberte dönemindeki ratlar 6 haftalık ve ortalama 150-170 gr ağırlığında, erişkin dönemdeki ratlar 12-13 haftalık ve ortalama 200-220 gr ağırlığında, postmenapozal dönemdeki ratlar ise 18-19 aylık ve ortalama 210-230 gr ağırlığında idi. Sıçanlar aynı merkezde tek tek ve ayrı ayrı kafeslere konularak standart sıçan yemi, şekerli bisküvi ve su ile beslendi.

Çalışma grupları;

Prepubertal Grup = 6 adet denek+ 4 adet kontrol

Pubertal Grup = 6 adet denek+ 4 adet kontrol

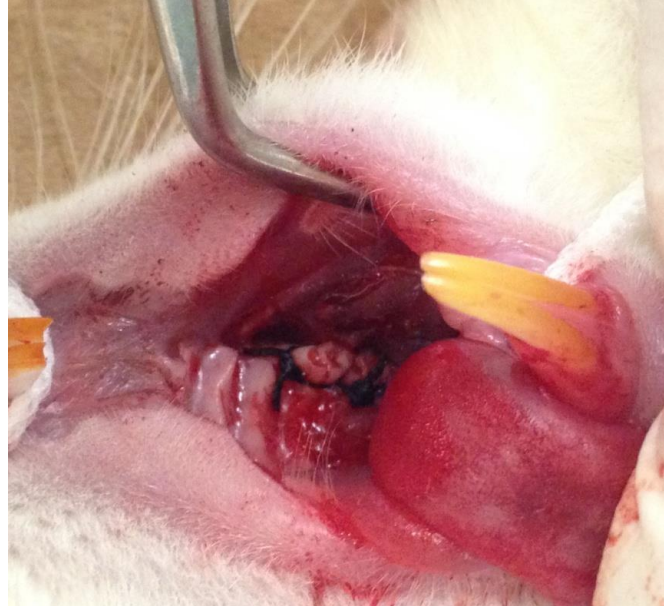
Erişkin Grup = 6 adet denek+ 4 adet kontrol

Postmenopozal Grup = 6 adet denek+ 4 adet kontrol olmak üzere 4'e ayrıldı.

2.2. Deneysel Çalışma Modeli

Periodontitis oluşturmak için çalışmamızda kullanılan denek ratlara Rompun 10 mg/kg ve Xylazine 40 mg/kg ketamin anestezisi yapıldı. Anestezi sağlandıktan sonra hem sol hem sağ üst birinci ve ikinci molar dişlerine 3/0 ipek sütür (Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi AŞ, Türkiye) materyali ligatür şeklinde bağlandı ve subgingival

olarak yerleştirildi (Şekil 2.1). Süturun bağlanması takiben 21. günde hem deney hem de kontrol grubundaki ratlara ketamin (40mg/kg) ve rompun (10 mg/kg) uygulanarak anestezi sağlandı. Daha sonra sıçanlar tartıldı ve ortalama ağırlıkları prepubertal, pubertal, erişkin ve postmenopozal gruplar için sırasıyla 160-180 gr, 220-230 gr ve 240-250 gr idi. Bu işlemi takiben anestezi altındaki sıçanlardan 10 ml'lik enjektörle 'intrakardiyak' olarak kan alındı. Sıçanların kanı alındıktan sonra yüksek doz anestezi altında "sakrifikasyon" işlemi gerçekleştirildi. Alınan kanlar EDTA'lı tüpler içerisine konulduktan sonra 10 dk. boyunca santrifüj edildi (3000 devir/dk). Örnekler serum ve plazma olarak ayrıldıktan sonra serum kısmı eppendorf tüplere alındı ve analiz edileceği güne kadar -80°C'de saklandı.

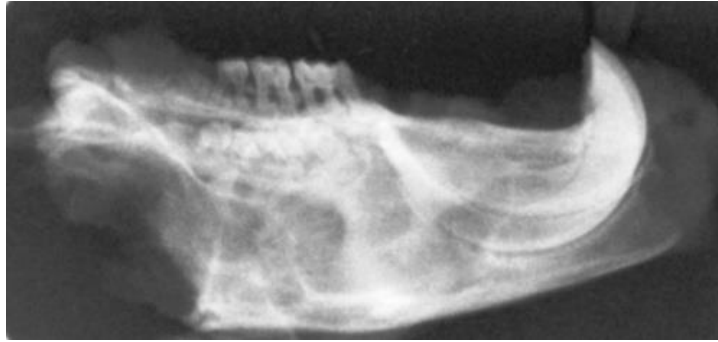


Şekil 2.1. Denek grubunda üst 1. ve 2. molar dişlere ligatür bağlanması

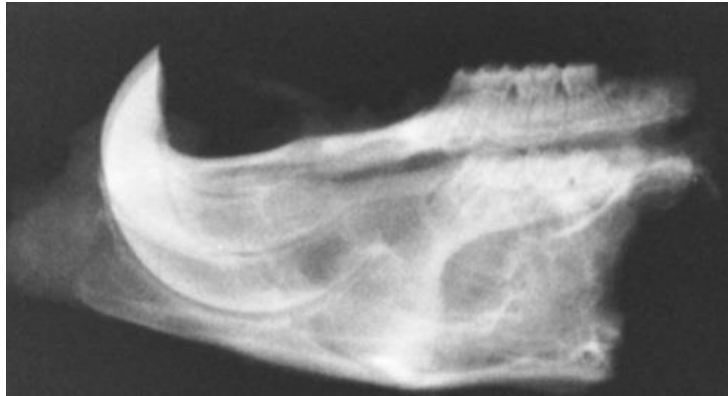
Sakrifikasyon işlemini takiben kontrol ve denek grubundaki sıçanların üst çeneleri oral yumuşak dokuları da içerecek şekilde çıkarıldı ve tamponlu formalinde fiske edildi (Şekil 2.2). Daha sonra periodontal yıkım gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol etmek için hem denek hem de kontrol grubundaki sıçanların üst çeneleri 60 kV, 7 mA dozda 0.02 saniye ışınlanarak radyografları alınıp (Bolmont Phot-X II) dijital ortama (Soredox Digora Optime) aktarıldı (Şekil 2.3 ve Şekil 2.4).



Şekil 2.2. Denek grubundaki sıçanın üst çenesi



Şekil 2.3. Denek grubundaki sıçanlardan alınan radyograf



Şekil 2.4. Kontrol grubundaki sıçanlardan alınan radyograf

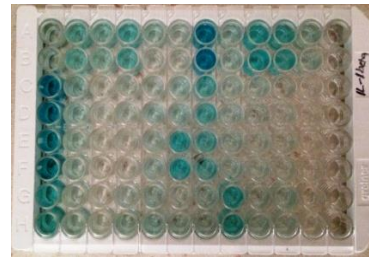
Prepubertal gruptaki ratların dişleri sürme aşamasında olduğu için ligatürün yerinde durmadığı ve periodontitis oluşmadığı gözlemlendi ve bu sebeple bu grup çalışma dışı bırakılmıştır. Diğer denek grubundaki tüm sıçanlarda yıkım oluştuğu için hepsi çalışmaya dahil edilmiştir.

2.3. Biyokimyasal Analizler

Araştırmamızın biyokimyasal analizleri Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Serum örneklerindeki, Osteokalsin*, Osteoprotegerin#, Alkalen Fosfataz[¥], TNF- α [†], IL-1 β [‡], Açile Rat Ghrelin[§], Total Rat Ghrelin[§], sRANKL[¶] konsantrasyonları ELISA kitleriyle değerlendirildi (Şekil 2.5 ve Şekil 2.6).



Şekil 2.5. ELISA kitleri deney aşaması



Şekil 2.6. ELISA kitleri deney aşaması

* (Rat Osteocalcin Uscn Life Science Inc., Wuhan,Hubei, 430056, PRC)

(Rat Osteoprotegerin ELISA Kit, CUSABIO®, Wuhan, Hubei Province 430223,P.R.China)

¥ (Rat Alkaline Phosphatase ELISA Kit, CUSABIO® Wuhan, Hubei Province 430223, P.R.China)

† (Rat TNF-alpha Platinum ELISA, eBioscience®, Bender MedSystems GmbH Campus Vienna Biocenter 2 1030 Vienna, Austria)

‡ (Rat IL-1 β Platinum ELISA, eBioscience®, Bender MedSystems GmbH Campus Vienna Biocenter 2 1030 Vienna, Austria)

§ (Rat Acylated Ghrelin Enzyme Immunoassay Kit, SPI bio®-bertin pharma, Montigny Le Bretonneux, France)

§ (Rat GHRELIN Enzyme Immunoassay Kit, Phoenix Pharmaceuticals, INC., California, USA)

¶ (Rat soluble receptor activator of nuclear factor- κ B ligand ELISA Kit, CUSABIO®, Wuhan, Hubei Province 430223, P.R.Chin

2.4. İstatistiksel Analiz

Konsantrasyon değerleri cihazın belirleme sınırından (limit of detection=LOD) düşük olduğunda, ölçülen değerler “<LOD” ile ifade edilmiştir. Bu veriler için konsantrasyon değerleri yerine $\frac{LOD}{\sqrt{2}}$ değeri konulmuş ve analizler buna göre yapılmıştır (Methods of Dealing with Values Below the Limit of Detection using SAS, Croghan W. C., Egeghy P. P.).

Çalışmadaki Total Ghrelin gibi değişkenlerin, puberte, erişkin ve postmenopozal sıçan grupları ile denek ve kontrol grupları içerisinde dağılımını belirtmek için değişkenler ortalama±standart sapma (ort±ss) ile ifade edilmiştir. Bir konsantrasyon değeri bakımından bir grup içindeki tüm bireylerin ölçümleri belirleme sınırından düşük ise belirtici istatistik değerleri hesaplanmamış ve N.A. ile belirtilmiştir.

Her bir yaş grubu içinde kontrol ve denek hayvanlarının TNF- α , IL-1 β gibi değişkenlerin ölçümleri bakımından karşılaştırılması için bağımsız örneklem t testi kullanılmıştır. Denek ve kontrol grubundaki puberte, erişkin ve postmenopozal sıçanlarla ilgili değişkenler bakımından karşılaştırılmasında ANOVA’dan yararlanılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde Pearson ilişki katsayısı hesaplanmıştır.

Bu çalışmadaki istatistiksel analizler ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) programı kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

Çalışmamızda 10 pubertal sıçanın 4'ü kontrol grubunda 6'sı denek grubunda bulunmaktadır. Denek grubunun ALP konsantrasyon ortalaması 10.643 ± 3.561 , kontrol grubunun ALP konsantrasyon ortalaması 5.180 ± 2.818 olarak bulunmuştur. Denek grubunun ortalama değerlerinin kontrol grubundan istatistiksel anlamlılık düzeyinde yüksek olduğu görülmüştür ($t=2.563$, $p=0.033$). ALP dışındaki parametrelerde pubertal sıçanlarda denek ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık bulunamadı. Denek grubunda TNF- α değerleri belirleme sınırından düşük olduğu için karşılaştırma yapılamadı.

Çizelge 3.1. Pubertal sıçanlarda denek grubu ve kontrol grubunun karşılaştırılması

Pubertal (P)	Denek	Kontrol	Test	
	ort $\pm$ ss	ort $\pm$ ss	istatistiği	p
Total Ghrelin (ng/ml)	0.130 $\pm$ 0.114	0.560 $\pm$ 0.543	-1.562	0.211
Acile Ghrelin (pg/ml)	5.233 $\pm$ 8.844	4.102 $\pm$ 5.432	0.226	0.827
Alkalen Fosfataz (mlU/ml)	10.643 $\pm$ 3.561	5.180 $\pm$ 2.818	2.563	0.033*
IL-1 β (pg/ml)	257.498 $\pm$ 328.489	200.436 $\pm$ 307.477	0.276	0.790
TNF- α (pg/ml)	N.A.	42.223 $\pm$ 29.151		
Osteokalsin (pg/ml)	710.607 $\pm$ 148.478	535.019 $\pm$ 289.384	1.280	0.237
Osteoprotegerin (pg/ml)	1170.815 $\pm$ 384.150	949.508 $\pm$ 350.002	0.922	0.383
RANKL (pg/ml)	598.567 $\pm$ 206.125	531.508 $\pm$ 88.988	0.605	0.562

*p<0.05

Erişkin grupta tüm değişkenler bakımından denek grubu ile kontrol gruplarının benzer oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 3.2, $p>0.05$). TNF- α ve total ghrelin değerleri denek gruplarında belirleme sınırından düşük olduğu için karşılaştırma yapılamadı.

Çizelge 3.2. Erişkin sıçanlarda denek grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılması

Erişkin(E)	Denek	Kontrol	Test	
	ort±ss	ort±ss	istatistiği	p
Total Ghrelin (ng/ml)	N.A.	0.177±0.045		
Acile Ghrelin (pg/ml)	2.649±1.385	4.625±4.307	-0.887	0.433
Alkalen Fosfataz (mIU/ml)	5.751±3.068	8.325±7.694	-0.753	0.473
IL- 1 β (pg/ml)	148.567±264.861	684.879±803.220	-1.554	0.159
TNF- α (pg/ml)	N.A.	32.517±9.739		
Osteokalsin (pg/ml)	585.883±65.547	581.935±115.589	0.070	0.946
Osteoprotegerin (pg/ml)	824.508±215.317	956.905±521.406	-0.567	0.586
RANKL (pg/ml)	399.960±114.719	385.700±209.051	0.141	0.892

Postmenopozal denek grubunun osteoprotegerin konsantrasyon ortalaması 929.228±260.698, kontrol grubunun konsantrasyon ortalaması ise 1460.850±240.241 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.3). Osteoprotegerin konsantrasyon değerlerinin denek grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir ($t=-3.252$, $p=0.012$). Diğer değişkenler bakımından kontrol grubu ile denek grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$). TNF- α denek ve kontrol gruplarında belirleme sınırından düşüktü.

Çizelge 3.3. Postmenopozal sıçanlarda denek grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılması

Postmenopozal (Y)	Denek	Kontrol	Test	
	ort±ss	ort±ss	istatistiği	p
Total Ghrelin (ng/ml)	0.419±0.645	0.362±0.582	0.142	0.891
Acile Ghrelin (pg/ml)	35.269±21.910	55.238±63.690	-0.604	0.583
Alkalen Fosfataz (mIU/ml)	9.278±3.373	11.740±8.068	-0.679	0.516
IL-1 β (pg/ml)	90.822±133.559	46.275±21.085	0.649	0.535
TNF- α (pg/ml)	N.A.	N.A.		
Osteokalsin (pg/ml)	613.916±119.110	478.838±105.023	1.835	0.104
Osteoprotegerin (pg/ml)	929.228±260.698	1460.850±240.241	-3.252	0.012*
RANKL (pg/ml)	519.040±196.793	658.260±174.101	-1.144	0.286

*p<0.05

Pubertal, erişkin ve postmenopozal dönemdeki sıçanların kontrol grupları total ghrelin, açile ghrelin vb değişkenler bakımından karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir (Çizelge 3.4, p>0.05).

Çizelge 3.4. Pubertal, erişkin ve postmenopozal sıçanların kontrol gruplarının karşılaştırılması

Kontrol	Pubertal(P)	Erişkin (E)	Postmenopozal(Y)	Test	
	ort±ss	ort±ss	ort±ss	istatistiği	p
Total Ghrelin (ng/ml)	0.560±0.543	0.177±0.212	0.362±0.582	0.650	0.545
Açile Ghrelin (pg/ml)	4.102±5.432	4.625±4.307	55.238±63.690	2.523	0.135
AlkalenFosfataz (mlU/ml)	5.180±2.818	8.325±7.694	11.740±8.068	0.977	0.413
IL-1 β (pg/ml)	200.436±307.477	684.879±803.220	46.275±21.085	1.800	0.220
TNF- α (pg/ml)	42.223±29.151	32.517±9.736	N.A.	t= -0.632	0.551*
Osteokalsin (pg/ml)	535.019±289.384	581.935±115.589	478.828±105.023	0.296	0.751
Osteoprotegerin (pg/ml)	949.508±350.002	956.905±521.406	1460.850±240.241	2.280	0.158
RANKL (pg/ml)	531.508±88.988	385.700±209.051	658.260±174.101	2.725	0.119

*Bağımsız örneklem t testi sonucu

Pubertal, erişkin ve postmenopozal sıçanların denek grupları karşılaştırıldığında açile ghrelin konsantrasyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($\chi^2 = 10.565$, $p = 0.001$) (Çizelge 3.5). Grupların ikili karşılaştırılması sonucunda postmenopozal sıçanların açile ghrelin konsantrasyon değerlerinin, erişkin sıçanların açile ghrelin konsantrasyon değerlerinden yüksek olduğu tespit edilmiştir (p=0.043).

Çizelge 3.5. Pubertal, erişkin ve postmenopozal sıçanların denek gruplarının karşılaştırılması

Denek	Pubertal(P)	Erişkin(E)	Postmenopozal (Y)	Test	
	ort±ss	ort±ss	ort±ss	istatistiği	p
Total Ghrelin (ng/ml)	0.130±0.114	N.A.	0.419±0.645	t= -1.081	0.305*
Açile Ghrelin (pg/ml)	5.233±8.844	2.650±1.385	35.269±21.910	10.565	0.001**
Alkalen Fosfataz (mlU/ml)	10.643±3.560	5.751±3.068	9.278±3.374	3.426	0.059
IL-1 β (pg/ml)	257.498±328.489	148.567±264.861	90.822±133.559	0.658	0.532
TNF- α (pg/ml)	N.A.	N.A.	N.A.		
Osteokalsin(pg/ml)	710.607±148.478	585.833±65.547	613.916±119.110	1.902	0.184
Osteoprotegerin (pg/ml)	1170.815±384.150	824.508±215.317	929.228±260.698	2.168	0.149
RANKL (pg/ml)	598.567±206.125	399.960±114.719	519.040±196.793	1.906	0.183

*Bağımsız örneklem t testi sonucu

**p<0.01

Postmenopozal sıçanlar için Total Ghrelin konsantrasyonu ile IL-1 β konsantrasyonu arasında güçlü derecede pozitif yönlü ilişki görülmüştür ($r=0.708$, $p<0.05$) (Çizelge 3.6). Total Ghrelin konsantrasyonu ile diğer değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 3.6. Total Ghrelin konsantrasyonu ile diğer değişkenlerin konsantrasyon değerleri arasındaki ilişkiler (Pearson ilişki katsayıları)

	Total Ghrelin Konsantrasyonu		
	Pubertal	Erişkin	Postmenopozal
Acile Ghrelin (pg/ml)	0.227	-0.251	0.321
Alkalen Fosfataz (mlU/ml)	-0.364	-0.359	0.063
IL-1 β (pg/ml)	-0.345	-0.200	0.708*
TNF- α (pg/ml)	N.A.	N.A.	N.A.
Osteokalsin (pg/ml)	-0.254	0.421	0.398
Osteoprotegerin (pg/ml)	-0.403	-0.377	-0.037
RANKL (pg/ml)	-0.402	-0.610	-0.164

*p<0.05

Açile Ghrelin konsantrasyonu ile diğer değişkenlerin konsantrasyon değerleri arasındaki ilişkiler incelendiğinde hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir (p>0.05, Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. Açile Ghrelin konsantrasyonu ile diğer değişkenlerin konsantrasyon değerleri arasındaki ilişkiler (Pearson ilişki katsayıları)

			Acile Ghrelin Konsantrasyonu		
			Pubertal	Erişkin	Postmenopozal
Alkalen	Fosfataz	-0.154		0.417	-0.258
(mlU/ml)					
IL-1 β		-0.307		0.261	0.35
(pg/ml)					
TNF- α		-0.163		-0.251	N.A.
(pg/ml)					
Osteokalsin		0.040		0.004	-0.290
(pg/ml)					
Osteoprotegerin		0.219		0.300	-0.092
(pg/ml)					
RANKL		0.040		0.467	-0.117
(pg/ml)					

4. TARTIŞMA

İnsanda dolaşımdaki kadın cinsiyet hormonlarının değişkenliğinin periodontal sağlık üzerine çok belirgin etkileri vardır ve periodontal durumdaki bu etkilerin cinsiyet hormonlarındaki varyasyonlarla ilişkili olduğu araştırmalarda gösterilmiştir (Mascarenhas, 2003). “Puberteyle ilişkili gingivitis”, “menstrual siklusla ilişkili gingivitis” ve “hamilelik gingivitisi” gibi periodontal hastalık tanımları cinsiyet hormonları ve periodontal durum arasındaki ilişkiye dayanarak yapılan sınıflamanın (Armitage, 1999) sonucudur. Hamilelik, dental plağa karşı enflamatuvar reaksiyonları büyük ölçüde değiştirir, vasküler proliferasyonu artırarak enflamasyonun artışına ve hiperplastik dişeti cevabına neden olur ve dolayısıyla periodontitis oluşumu için zemin hazırlamış olur. Pubertenin buna benzer fakat daha düşük ölçekli etkileri vardır. Menstrual döngünün ve hormonal doğum kontrol ilaçlarının da dişeti sağlığına çok daha küçük ölçüde etkileri bulunmaktadır. Kadın metabolizmasındaki bu ritmik hormonal dalgalanmalar menopoza döneminde östradiolün salımının durmasıyla sona ermektedir fakat menopoza sonrasında gelişen ağız kuruluğu neticesinde ileri periodontal hastalıklara zemin hazırlayabilen gingivostomatitler, kuru, parlak ve kanayan dişetleri sık görülür (Carranza, 2011c). Östrojen erişkin dönemde kemik yapım-yıkım metabolizmasında önemli rol oynayan bir hormondur. Bu hormonun menopoza dönemindeki eksikliği sonucunda kemik yapım metabolizmasında bozulmalar olur (Harkonen, 1996).

Ghrelin, büyüme hormonu salgılatıcı aktivitesinin yanı sıra bazı endokrin ve metabolik fonksiyonları olan peptit yapıda bir hormondur (Kellokoski, 2005). Bazı çalışmalarda ghrelin salımının cinsiyet ve gelişimsel dönemlere göre farklılıklar gösterdiği ve cinsiyet hormonları tarafından modüle edildiği belirtilmiştir (Barkan, 2003; Liu, 2002; Sakata, 2002). Cinsiyetin ghrelin düzeyini etkilemediğini bildiren çalışmaların yanı sıra kadınlarda, daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Purnell, 2003; Barkan, 2003).

Bu tez çalışmasına başlarken hedefimiz yaşam sürelerince dolaşımdaki cinsiyet hormonlarının farklı seviyelerde bulunduğu dönemlerdeki kadınların, periodontitis oluşumu sonrası dolaşımdaki enflamatuar reaksiyon ürünleri ve ghrelin seviyelerini sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak gözlemlemektir. Böylelikle farklı dönemlerdeki (prepuberte, puberte, erişkin ve menopo) enflamatuar cevap ve kemik metabolizması ile ghrelin ilişkisini ortaya koymak mümkün olabilecektir. Materyali insan olan çalışmalarda karşılaşılan kriterlere uyan hasta bulma ve takip zorluğu, kişisel farklılıklar, beslenme farklılıkları, kişisel alışkanlıklar, oral hijyen alışkanlıklarındaki farklılıklar gibi kısıtlamalar sebebiyle ve denek-kontrol gruplarını standardize edebilmek amacıyla hayvanlarda deneysel periodontitis modeli oluşturuldu. Ghrelin sıçanlarda da tanımlandığı (Karbonits, 2004) için araştırma materyali olarak farklı yaşam döngülerinde olan dişi sıçanlar seçilmiştir.

Çalışmamıza 10 adet puberte öncesi, 10 adet puberte, 10 adet erişkin ve 10 adet menopo sonrası olmak üzere 40 adet dişi sıçan dahil edilmiştir. Bu grupların insanda çocukluk, ergenlik, erişkinlik ve doğurganlığın sona erdiği menopo sonrası dönemleri temsil ettiği düşünülmüştür. İnsanda, artan hamilelik sayısı ile periodontal durumun daha kötüye gidebildiğini göz önünde bulundurarak sıçanlarda oluşturduğumuz bu simülasyonda da sıçanlar daha önce hiç gebelik yaşamamış olanlar arasından seçilmiştir. Yapılan çalışmalarda, genellikle, ilerleyen yaş ve hamilelik sayısının artışıyla birlikte periodontal durumun kötüye gittiği bildirilmiştir (Taani, 2003; Kürklü, 2003). Taani ve ark. (2003) 200'ü hamile toplam 400 kadın üzerinde yapmış oldukları çalışmada demografik faktörlerin periodontal durumla ilişkisini değerlendirmiş ve iki ya da daha fazla hamilelik yaşayan kadınların ilk hamileliğini sürdüren kadınlara göre gingival indeks ve cep derinliği parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Kürklü (2003), artan hamilelik sayısı ile periodontal durumun kötüye gittiğini bildirmiştir. Bu nedenle çalışmaya hiç hamile kalmamış dişi sıçanlar dahil edilmiştir.

Çalışmamızda denek grubundaki sıçanlarda ligatür yoluyla periodontitis oluşturduk. İşlem yapılan sıçanların hem sol hem sağ üst birinci ve ikinci molar dişlerine 3/0 ipek sütür materyali kullanılmıştır. Literatürde deneysel periodontitis oluşturmak

için naylon ligatür (Bezerra, 2000; Alencar, 2002), pamuk ligatür (Holzhausen, 2002; Almeida, 2007; Herrera, 2011) gibi materyaller de kullanılmasına rağmen plak tutulumunun en fazla ipek ligatürle sağlanması sebebiyle bu materyali seçtik. Literatürde tanımlanan bir başka deneysel periodontitis oluşturma metodu ise lipopolisakkarit enjeksiyonudur (Kador, 2011). Fakat çalışmamızda kan örneklerinde incelediğimiz parametrelerin sonuçlarını etkilememesi için bu yöntem seçilmemiştir. Bu işlemten sonra sıçanları strese girmemeleri ve birbirlerini etkilememeleri için tek tek ve ayrı ayrı kafeslere yerleştirdik. Aynı şartları sağlamak amacıyla kontrol grubundaki sıçanlar da tek tek ve ayrı ayrı kafeslere yerleştirildi. Daha sonra plak birikimini arttırmak ve dolayısıyla periodontitis oluşumunu kolaylaştırmak için tüm denek grubundaki sıçanlar standart sıçan yemi yanı sıra şekerli bisküvi ile beslendi. Yine beslenmeyi standardize etmek ve çalışmanın sonuçlarına etkisini ekarte etmek için kontrol grubundaki sıçanlara da aynı beslenme uygulandı.

Konu ile ilgili literatür incelendiğinde, ligatürle deneysel periodontitis oluşturma modelinde sakrifikasyon için farklı zamanlar seçildiği görülmektedir (Bezerra, 2000; Alencar, 2002; Holzhausen, 2002; Achong, 2003; Almeida, 2007; Herrera, 2011; Kador, 2011; Branco-de-Almeida, 2011). Daha önceki raporlarda ratlarda deneysel periodontitis için 7 günden 28 güne uzayan bir periyot bildirilmiştir (Bissada, 1966; Carranza, 1971). Çalışmamızda 21. günün sonunda kemik yıkımı oluştuğunu tespit ettik ve 21. günde tüm denek ve kontrol grubundaki sıçanlardan intrakardiyak kan alarak sakrifiye ettik. Achong (2003) sıçanlarda deneysel periodontitis oluşturduğu çalışmasında, ligatür yerleştirilmesini takiben 21. günde junctional epitelin apikale migre olduğunu, kemik yıkımı gözlendiğini ve bağ dokuda kayıpla beraber kronik enflamasyon periyodunun başladığını söylemiştir. Sıçanlarda kuyruk veninden kan alma, kulaktan kan alma, periorbital kan alma gibi yöntemler de bulunmasına rağmen en fazla kan miktarı intrakardiyak kan alımı ile sağlanacağı için bu yöntem seçildi. Ayrıca işlem sonrasında sıçanlar sakrifiye edileceği ve intrakardiyak kan alımının sakrifikasyon yöntemlerinden biri olması da bu yöntemi seçmemizin nedenlerindendir. Prepubertal gruptaki ratların dişleri sürme aşamasında olduğu için ligatürün yerinde durmadığı ve kemik yıkımı oluşmadığı gözlendi ve bu sebeple bu grup çalışma dışı bırakıldı.

Sakrifikasyon işleminden sonra tüm sıçanlarda periodontitis oluşumunun kontrolü alınan radyograflarla yapılmış ve denek grubundaki maksillaların tümünde ileri alveoler kemik yıkımları gözlenmiştir (Şekil 2.3 ve 2.4).

Çalışmamızda TNF- α , IL-1 β , alkalen fosfataz, osteokalsin, RANKL, osteoprotegerin, açile ghrelin ve total ghrelin parametreleri, sağlıklı kontrol gruplarıyla periodontitisli sıçanlar arasında karşılaştırıldı ve birbirleriyle olan ilişkileri değerlendirildi.

Puberte dönemindeki denek ve kontrol grupları karşılaştırıldığında alkalen fosfataz ($p=0.033$) haricindeki parametrelerde anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 3.1).

ALP, polimorfonükleer lökositler, osteoblastlar ve fibroblastlar gibi periodontal çevredeki birçok hücreden üretilen (Abe, 1994; Sanchez de Medina, 2004) membran bağlı bir glikoproteindir (Fedde, 1990). ALP aktivitesinin kemik metabolizmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Daltaban, 2006; Kuru, 1999). Yapılan çalışmalarda ALP ölçümlerinin kemiğin metabolik aktivitesinin önemli bir belirteci olabileceği söylenmektedir (Perozini, 2010).

Gibert (2003) periodontitisli bireylerle sağlıklı bireyleri karşılaştırmış ve periodontal hastalıkta ataşman kaybıyla serum ALP aktivitesi arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Perozini (2010) çalışmasında periodontitiste dişeti oluk sıvısındaki artmış ALP aktivitesinin alveoler kemik yıkımıyla ilişkili olabileceğini söylemiştir. Allam (2010), ratlarda deneysel periodontitis modeli oluşturduğu çalışmasında deney grubunda kontrol grubuna göre artmış ALP seviyelerini göstermiştir. Ishikawa (1970), periodontitisli hastalarda artmış ALP seviyelerini göstermiş ve bu durumun cep derinliği ve kemik kaybıyla pozitif korelasyon gösterdiğini söylemiştir. Daltaban (2006), periodontitisli hastaların tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırmalarını yaptığı çalışmasında başlangıç dişeti oluğu sıvısı ALP düzeylerini periodontitisli hastalarda daha yüksek bulmuş ve periodontal tedaviyi takiben bu seviyenin azaldığını göstermiştir. Yukarıda belirtilen bu çalışmalar serum, DOS gibi örneklerde incelenen ALP düzeylerinin periodontal hastalık aktivitesindeki artışla orantılı olarak arttığını

bildiren çalışmalardır. Fakat bu çalışmaların yanı sıra, Von Wower (2001) periodontitisli genç erişkinlerde serum ALP düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı fark göstermediğini bildirmiştir. Yine Ünsal (2008), periodontitisli genç erişkin hastaların serum ALP düzeylerinin kontrol grubuyla benzer seviyelerde olduğunu göstermiştir.

Tobiume (1997), serum ALP düzeylerinin kadınlarda 7-8 yaşında artmaya başladığını, 11-12 yaşında pik noktasına ulaştığını ve yaşı artmasıyla serum ALP düzeylerinin azaldığını bildirmiştir. Puberte boyunca artmış serum ALP seviyeleri göstermiştir. Benzer olarak Kantero (1975), alkalen fosfatazın 11,5 yaşında maksimum aktiviteye ulaştığını, Bennett (1976) kızlarda 12-14 yaş aralığında alkalen fosfataz aktivitesinin maksimum düzeye ulaştığını bildirmiştir. Fleisher (1977), pubertal çocuklarda serum alkalen fosfataz aktivitesini değerlendirdiği çalışmasında, kızlarda 11-12 yaşında erkeklerde ise 13-14 yaşında pik noktasına ulaştığını bildirmiştir.

Bizim çalışmamızda ALP sadece puberte grubundaki denek sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.031$, Çizelge 3.1). Kemik metabolik aktivitesinin belirteçlerinden olan ALP'nin, puberte gibi yaşamın önemli bir gelişim döneminde diğer dönemlerde görülmeyen şekilde yüksek bulunması zaten çok hızlı büyüyen ve gelişen canlılar olan sıçanlarda periodontal hastalığın, pubertedeki mevcut hızlı aktiviteyi daha da arttırdığını düşündürmektedir.

Erişkin dönemdeki sıçanlarda denek ve kontrol grupları arasındaki hiçbir parametrede fark bulunamamıştır (Çizelge 3.2).

Postmenopozal grupta osteoprotegerin açısından kontrol ve denek grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.012$, Çizelge 3.3). OPG, kontrol grubunda deneklere göre daha yüksek bulunmuştur.

Osteoprotegerin, RANKL için tuzak reseptör görev yapan, RANK-RANKL birleşimini negatif yönde etkileyen bir reseptördür (Fili, 2009). RANKL-RANK-OPG ekseninin, periodontitiste kemik metabolizmasının düzenlenmesinde yeri olduğu açıktır. OPG seviyesindeki bir azalma ya da RANKL seviyesindeki bir artma, kemik metabolizmasındaki dengeyi osteoklastogenezis ve periodontal hastalık belirtisi olan alveoler kemik yıkımı lehine dönüştürebilir (Cochran, 2008).

Periodontal hastalıkta OPG'nin rolü üzerine yapılan bazı çalışmalarda, periodontitisli hastaların sağlıklı kontrolleriyle karşılaştırıldığında OPG ekspresyonunun azalmış olduğu bildirilmiştir. (Duarte, 2007; Buduneli, 2008; Buduneli, 2009; Tang, 2009).

Kemik iliği stromal hücrelerinde OPG üretiminin yaşla azaldığı bildirilmesine rağmen (Makhluf, 2000), kadın ve erkeklerde serum OPG üretiminin yaşla arttığı gösterilmiş ve postmenopozal osteoporotik kadınların serum OPG seviyelerinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Yano, 1999). Bu durumun postmenopozal kadınları daha hızlı kemik kaybı oluşmasına karşı koruyor olabileceği söylenmiştir. Bandari (2012), DOS'ta OPG konsantrasyonlarını sağlıklı ve kontrol grubuyla karşılaştırdığı çalışmasında, bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak kontrol grubunda daha yüksek OPG seviyeleri bulmuştur. Ayrıca osteoprotektif rolü olan OPG'nin ekspresyonunun büyüme faktörleri, hormonlar, çeşitli sitokinler ile osteoblastlarda regüle edildiğini söylemiştir.

Jabbar (2011) yaptığı çalışmasında OPG seviyelerini postmenopozal periodontitisli kadınlarda sağlıklı olanlara göre daha yüksek seviyelerde bulmuştur. Bu çalışmaların aksine Lu (2006), OPG seviyelerinin periodontitisli hastalarda değişmediğini bildirmiştir.

Periodontitis hastalarının dişeti dokusu ve DOS'unda sağlıklı bireylerden daha yüksek RANKL düzeyleri tespit eden, fakat her iki grubun OPG düzeylerinin benzer olduğunu bildiren çalışmalar vardır (Kawai, 2006; Wara-aswapati, 2007; Lu, 2006). Buna karşılık hastalıklı dokularda sağlıklı kontrollere oranla daha yüksek RANKL ve

daha düşük OPG ekspresyonlarının tespit edildiğini bildiren çalışmalar da vardır (Crotti, 2003; Mogi, 2004; Bostancı, 2007).

Biz çalışmamızda postmenopozal grupta sağlıklı ve periodontitisli sıçanlar arasında OPG seviyelerinin sağlıklı grupta anlamlı derecede yüksek olduğunu bulduk ($p=0.012$, Çizelge 3.3). Bu sonuç literatürdeki birçok çalışmayla uyumludur (Duarte, 2007; Buduneli, 2008; Buduneli, 2009; Tang, 2009; Crotti, 2003; Mogi, 2004; Bostancı, 2007).

Çizelge 3.4'te yaşamlarının farklı dönemlerindeki (puberte, erişkin, postmenapozal) işlem yapılmamış kontrol gruplarındaki dişi sıçanların karşılaştırılması görülmektedir. Hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Çizelge 3.5'te pubertal, erişkin, postmenopozal dönemdeki sıçanların denek grupları karşılaştırıldığında acile ghrelin, postmenopozal grupta diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derece daha yüksek bulundu ($p=0.001$).

Yaşın ghrelin seviyesi üzerine etkisi henüz kesinlik kazanmamıştır. Yaşla ghrelin düzeyleri arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını gösteren çalışmalarla birlikte (Shiia, 2002), plazma ghrelin seviyesinin yaşla pozitif veya negatif korelasyon gösterdiğini bulan çalışmalar da mevcuttur (Purnell, 2003; Chan, 2004; Ingelsson, 2008).

Greenman (2009) çalışmasında, bizim sonuçlarımıza benzer şekilde postmenopozal kadınlarda ghrelin seviyelerini daha yüksek bulmuş ve ghrelin seviyeleriyle testosteronun pozitif korelasyon içerisinde olduğunu göstermiştir.

St. Pierre (2007) yaptığı çalışmada kilolu ve postmenopozal dönemdeki kadınlarda insülin direnci ile açile ghrelinin artmış fizyolojik seviyeleri arasında ilişki olduğunu bildirmiştir. Biz de çalışmamızda tüm hayvanları plak birikimini arttırıp periodontitis oluşumunu kolaylaştırmak için şekerli bisküvi ile beslediğimizi

ve başlangıç-bitiş kiloları arasında en fazla artışın postmenopozal grupta olduğunu göz önünde bulundurduğumuzda, postmenopozal gruptaki sıçanlarda insülin direnci geliştirmiş olabileceğimiz ve bu sebeple diğer gruplara oranla açile ghrelin seviyelerinde artış olabileceği düşüncesi akla gelmektedir. Fakat kan glikoz seviyeleri değerlendirilmediği için bu yorum yapılamamaktadır.

Çizelge 3.6’da total ghrelinin postmenopozal dönemdeki sıçanlarda IL-1 β ile pozitif yönlü güçlü bir ilişkisi olduğu tespit edilmiştir ($p=0.708$, $p<0.05$).

Literatürde çalışmamızda değerlendirdiğimiz bir diğer parametre olan IL-1 β ’nın periodontal hastalıkta serum seviyelerini değerlendiren birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları bizim çalışmamızla uyumlu olarak periodontal hastalıkta artmış serum IL-1 β düzeyi bildirmiştir (Gorska, 2003; Trombone, 2009).

Literatürdeki bilgiler ghrelinin enflamasyonla birlikte genellikle arttığı yönündedir. Ülseratif kolit, Crohn hastalığı, ankilozan spondilit, sepsis, romatoid artrit gibi birçok enflamatuvar hastalıkta artmış serum ve plazma ghrelin seviyeleri rapor edilmiştir (Hattori, 2009; Katargari, 2008; Kerem, 2007; Maruna, 2005; Otero, 2004; Taub, 2007; Taub, 2010; Toussiot, 2007). Yapılan çalışmalarda ghrelinin lipopolisakkarit ile indüklenmiş dolaşımdaki ve dokudaki IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin seviyelerini azalttığı ve antienflamatuvar aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Dixit, 2004; Vila, 2007). Bunlar göz önüne alındığında ghrelinin periodontal hastalık patogenezinde rol oynayabileceği düşünülebilir. Serum ve plazma ghrelin salımındaki artışın hastalık şiddetiyle paralel olduğu ve ghrelin seviyesinin proenflamatuvar sitokinlerle, özellikle TNF- α , IL-6 ve IL-1 β ile pozitif yönde korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Smith, 2005; Hattori, 2009; Baatar, 2011). Çalışmalarda enflamasyon ve sitokin ekspresyonunun dolaşımdaki ghrelin ekspresyonunu etkilediği rapor edilmesine rağmen enflamasyonun derecesinin ve hastalığın hangi safhada olduğunun bu sonuçları nasıl etkilediği açık değildir (Baatar, 2011).

Gorska (2003), periodontitisli hastaların enflame gingival dokularında ve serum örneklerinde klinik parametrelerle sitokin konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi değerlendirdiği çalışmasında IL-1 β konsantrasyonunun periodontitisli bireylerin serum örneklerinde daha yüksek olduğunu fakat klinik parametrelerle ilişkili olmadığını göstermiştir. Delima (2001) deneysel periodontitis modeli oluşturduğu çalışmasında, periodontal hastalık ilerleyişinin TNF- α ve IL-1 β gibi spesifik konak mediyatörlerinin antagonistleri ile doku yıkımının önemli derecede azaldığını göstermiştir. Trombone (2009), farelerde deneysel periodontitis oluşturduğu çalışmasında serum IL-1 β seviyelerini periodontitisli grupta daha yüksek bulmuştur. Bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur.

Bu çalışmaların aksine, IL-1 β serum seviyelerini periodontal hastalıkla ilişkilendiremeyen çalışmalar da mevcuttur (Mengel, 2002; Orozco, 2006; Ma, 2011). Vardar-Şengül (2006) ve Ma (2011) deneysel periodontitis modeli oluşturarak yaptıkları çalışmalarında serum IL-1 β seviyelerini kontrol ve periodontitisli grup arasında benzer bulmuştur. Chen (1997) çalışmasında IL-1 β serum seviyeleri arasında periodontitisli ve sağlıklı bireylerde fark bulamamıştır.

Açile ghrelinin ise diğer parametrelerle olan ilişkisi araştırıldığında hiçbir grupta hiçbir parametreyle anlamlı ilişkisi saptanmamıştır (Çizelge 3.7).

Çalışmaların çoğunda sadece dolaşımdaki total ghrelin düzeyi değerlendirilmiş, hasta ve kontrol grupları arasında açıl veya desaçıl ghrelin düzeylerine yönelik bir ayırım yapılmamıştır (Baatar, 2011). Açile ghrelin, ghrelinin n-oktanilasyonu ile oluşur. Bu modifikasyon hormonun aktivite göstermesi ve büyüme faktörü salımını uyarması açısından önem taşır. Çünkü açile ghrelin biyolojik olarak aktif ghrelindir (Li et al., 2004). Yapılan çalışmalarda desaçıl ghrelinin değil açile ghrelinin IL-1 α , IL-1 β , TNF- α ve IL-6 gibi proenflamatuar sitokinlerin mRNA ve protein ekspresyonu üzerine potansiyel inhibitör etkileri olduğu gösterilmiştir (Dixit, 2004; Taub, 2007). Bu nedenle çalışmamızda total ghrelinin yanı sıra açile ghrelin düzeyi de değerlendirilmiştir.

Ghrelinin deaçilasyonu dolaşımdayken gerçekleşir bu nedenle kan örneklerinin EDTA içeren kan tüplerine alınması, aprotinin gibi esteraz inhibitörlerinin ilave edilmesi, santrifüj edildikten sonra HCl asit ile asidifiye edilmesi ve -70°C de saklanması açıl ghrelinin stabilizasyonu açısından gereklidir (Hosoda, 2004). Yapılan çalışmalarda ghrelin seviyelerini belirlemek için kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınıp aprotinin ile santrifüj edilmiş ve HCl asit eklenmiştir (Akamizu, 2005; Shinomiya, 2005; Muscaritoli, 2007). S. Zang ve arkadaşlarının (2013), tip 2 diyabet gelişiminde ghrelin ve leptin ekspresyonunun insülin rezistansı ile ilişkisini araştırdığı çalışmada sıçanların kan örnekleri EDTA ve aprotinin içeren test tüplerine alınmış ve işlem yapılmıştır. Kawashima (2009) çalışmasında plazma açile ghrelin seviyelerini tespit etmek için aldığı kan örneklerini EDTA ve aprotinin içeren tüplere transfer ettikten sonra plazmayı santrifüjle ayırmış ve ayrılan plazma örneklerine HCl asit eklemiştir. Yılmaz (2014) total ve açile ghrelin seviyelerini ölçmek için EDTA'lı tüplere aldığı kanlara aprotinin eklemiş plazmayı ayırdıktan sonra HCl asit eklemiştir. A. Tvarijonaviciute ve arkadaşları (2014) farklı saklama koşulları ve farklı antikoagülanların total ve açile ghrelin ölçümündeki etkilerini köpek deney hayvanlarında çalışmıştır. EDTA'lı tüplere ilaveten HCl kullanılmasının (asidifiye edilmesinin) açile ve total ghrelin stabilitesini arttırmadığını ve dahası örneklerin asidifiye edilmesinin ELİSA ile çalışmada total ghrelin stabilitesini azalttığını ve açile ghrelinin ölçümünü zorlaştırdığını bildirmiştir. HCl asit genellikle insanda yapılan çalışmalarda önerilmektedir (Hosoda, 2004). Fakat, literatürde ghrelin çalışılan sıçan deneylerinde HCl asidin kullanıldığı metodla ilgili ayrıntılı bir çalışma bulunamamıştır. Biz kan örneklerini EDTA'lı biyokimya tüplerine aldıktan sonra santrifüj edip sonrasında hiçbir işlem uygulamadan analiz gününe kadar -80°C de sakladık. Çalışmamıza başlangıçta dahil olan prepubertal gruplardan yeterli kan alamayacağımız ve çalışmamızda değerlendirdiğimiz 8 parametre için ayrı ayrı yeterli miktarda kan elde edemeyeceğimiz için tüm parametrelerde kullanmak üzere ortak kan alımı yaptık. Aprotinin ve HCL asit kullanmadığımız için açile ghrelin düzeylerini düşük bulmuş olabiliriz.

Dolaşımdaki ghrelin seviyesi gün içerisinde açlık halinde yükselmekte, tokluk durumunda ise azalmaktadır. (Tschop, 2001; Chan, 2004). Açlık ghrelin seviyesini

artırmakta, gıda alımı ise 60-120 dk içerisinde düşürmektedir (Tschop, 2001). Yemek sonrası ghrelinin baskılanmasının alınan kaloriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Callahan, 2004). Ghrelin seviyeleri gıda alımından hemen önce ve gece boyunca en yüksek seviyeye çıkıp, gıda alımı sonrası düşmektedir (Aydın, 2006; Tschop, 2001). Çalışmamızın limitasyonlarından biri de sıçanların beslenmesidir. Her ne kadar tüm denek ve kontrol grubundaki sıçanların beslenme şekilleri standardize edilmiş de olsa beslenme zamanları gerekli otomasyon düzeni çalıştığımız laboratuarda mevcut olmadığı için standardize edilememiştir. Hangi gruptaki hayvanın hangi zamanda beslendiği, sakrifikasyondan ne kadar zaman önce beslendiği takip edilememiştir. Bu durum çalışmamızın ghrelinle ilgili sonuçlarını etkilemiş olabilir. Daha ileriki çalışmalarda beslenmenin en azından her hayvan için daha standart hale getirilmesi için tüm hayvanların sakrifikasyondan 1 saat öncesinde beslenmelerinin durdurulması çalışmanın sonuçları açısından daha yararlı olacaktır.

Çalışmamızın başka bir limitasyonu da tek zaman noktasında ölçüm yapmaktır. Çalışmamızı planlarken başlangıçta 4. grup olarak puberte öncesi 3-4 haftalık sıçanlar da araştırmaya dahil edilmişti. Bu grupta da diğer gruplar gibi ligatürle periodontitis oluşturulacak ve kan alımı yapılacaktı. Biz farklı zaman noktalarında kuyruktan kan alarak analiz yapmayı planlarken, GÜDAM'daki ve etik kuruldaki veteriner hekimlerin önerileri ve danışmanlığı yardımıyla, özellikle bu grupta kuyruktan yeterince kan elde edilemeyeceği için çalışmamızı doğrudan kardiyak kan alımıyla sakrifikasyon şeklinde planladık. Bu nedenle farklı zaman noktalarında ELİSA analizi yapılamamıştır. Nitekim bir sonraki daha büyük olan puberte grubundaki sıçanlardan elde edebildiğimiz kardiyak kan miktarı bile 3-4 ml olmuştur. Dört grupta da ligatür bağlayıp kan alımını gerçekleştirdikten sonra sakrifikasyon yapıldı. Bu aşamada hayvanların üst çeneleri periodontitis oluşup oluşmadığını kontrol için çıkarıldı. Çeneler çıkarıldığında prepubertal grup hariç diğer 3 grupta da deneklerde ligatürlerin yerinde durduğu ve alınan radyograflarda kemik yıkımı olduğu gözlemlendi. Prepubertal grupta dişler sürme aşamasında olduğu için ligatürlerin yerinde olmadığı görüldü ve alınan radyograflarda bu gruptaki deneklerde kemik yıkımı oluşmadığı görüldü. Bu nedenle bu grup çalışma dışı bırakıldı. Ligatürlerin yerinde durup durmadığını kontrol etmek için sakrifikasyon

zamanı dışında başka bir olanağımız yoktu. Çünkü veteriner hekimler tarafından, bunu kontrol etmek için hayvanlara anestezi verip uyutmamız gerektiği fakat özellikle puberte öncesi ve puberte grubundaki hayvanların biyolojik olarak 1' den fazla anesteziyi kaldıramayabileceği söylendi. Çalışma planımızı prepubertal gruba göre belirlediğimiz ve bu grubu ancak bu aşamada çalışma dışı bıraktığımız için çalışmamız tek zaman noktası ölçümlü olmuştur. Farklı zaman noktalarında ölçüm yapılmaması ghrelinin ve diğer parametrelerin tüm salımlarıyla ilgili tam bilgi sağlayamayabilir.

Ghrelin farklı doku ve organlarda farklı etki gösterir ve ghrelin aktivitesinin etki ettiği hücreye özgü olduğu düşünülmektedir (Zhao, 2006; Shimizu, 2003; Chow, 2009). Bu nedenle periodontitisli bireylerde, sadece sistemik ghrelin düzeylerinin belirlenmesinin değil aynı zamanda dişetinde de ghrelin bulunup bulunmadığı, bulunuyorsa doku düzeyinin tespit edilmesi de, periodontal hastalık patogeneğinde ghrelinin rolünü değerlendirmek açısından yararlı olabilir. Bu tez çalışması sırasında kurban edilen sıçanlardan elde edilen çeneler bir başka projede kaynak sağlanarak değerlendirilecektir.

5. SONUÇLAR

- 1- Postmenopozal gruptaki sıçanlarda IL-1 β ile total ghrelin arasında pozitif yönlü güçlü bir ilişki bulundu.
- 2- Puberte grubundaki ALP seviyeleri deneklerde anlamlı derecede daha yüksek bulundu.
- 3- Postmenopozal dönemde OPG kontrollerde daha yüksek bulundu.
- 4- Tüm denekler arasında açile ghrelin seviyeleri postmenopozal grupta en yüksekti.

Sonuç olarak, bu çalışmanın sınırları içerisinde ghrelin serum seviyelerinin, periodontal hastalık patogenezinde rol oynayan enflamatuvar sitokinler ve kemik yapım-yıkım metabolizmasının belirteçleri ile ilişkili olduğunu düşünebiliriz. Fakat bu hormonun periodontal patogenezdaki rolünü daha iyi değerlendirmek için serum seviyelerinin yanı sıra lokal olarak insanlarda dişeti, kemik ve dişeti oluk sıvısı seviyelerinin değerlendirilmesi, hayvan çalışmalarında ise sadece dişeti ve kemik seviyelerinin değerlendirilmesi daha faydalı olabilir.

ÖZET

Dişi Ratların Yaşam Döngülerinin Farklı Dönemlerinde Periodontitisteki Kemik Metabolizması İle Ghrelin İlişkisinin Araştırılması

Son yıllarda yapılan çalışmalar ghrelinin sadece endokrin fonksiyonlarının olmadığını, antienflamatuvar, antioksidan etki gibi farklı etkilerinin de olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, ghrelinin proenflamatuvar sitokin artışıyla ve kemik kaybıyla ilişkili periodontal hastalık patogenezinde de rol oynayabileceği akla gelmektedir.

Bu çalışmada amaç periodontitisli dişi ratların yaşam sürelerince dolaşımdaki cinsiyet hormonlarının farklı seviyelerde bulunduğu dönemlerdeki enflamatuvar cevap ve kemik metabolizması ile ghrelin ilişkisini ortaya koymaktır.

Araştırma 10 adet pubertal, 10 adet erişkin, 10 adet postmenopozal dönemde olan toplam 30 adet dişi Wistar üzerinde yapılmıştır. Çalışma grupları Pubertal Grup = 6 adet denek+ 4 adet kontrol, Erişkin Grup = 6 adet denek+ 4 adet kontrol ve Postmenopozal Grup = 6 adet denek+ 4 adet kontrol olmak üzere 3'e ayrıldı. Periodontitis oluşturmak için çalışmamızda kullanılan denek ratlara Rompun 10 mg/kg ve Xylazine 40 mg/kg ketamin anestezisi yapıldı. Anestezi sağlandıktan sonra hem sol hem sağ üst birinci ve ikinci molar dişlerine 3/0 ipek sütür materyali ligatür şeklinde bağlandı ve subgingival olarak yerleştirildi. Süturun bağlanmasını takiben 21. günde hem deney hem de kontrol grubundaki ratlara ketamin (40mg/kg) ve rompun (10 mg/kg) uygulanarak anestezi sağlandı ve 10 ml'lik enjektörle 'intrakardiyak' olarak kalplerinden kan alındı. Ratların kanı alındıktan sonra yüksek doz anestezi altında "sakrifikasyon" işlemi gerçekleştirildi. Alınan kanlar EDTA'lı tüpler içerisine konulduktan sonra 10 dk. boyunca santrifüj edildi (3000 devir/dk) ve serum kısmı ayrıldı. Araştırmamızın biyokimyasal analizleri için serum örneklerindeki, osteokalsin, osteoprotegerin, alkalin fosfataz, TNF- α , IL-1 β , açile rat ghrelin, total rat ghrelin, sRANKL konsantrasyonları ELISA kitleriyle değerlendirilerek yapıldı. Sakrifikasyon işlemi takiben periodontal yıkım gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol etmek için hem denek hem de kontrol grubundaki ratların üst çenelerinden radyografları alındı.

Postmenopozal gruptaki ratlarda IL-1 β ile total ghrelin arasında pozitif yönlü güçlü bir ilişki bulunmuştur (p=0.708). Puberte grubundaki ALP seviyeleri deneklerde anlamlı derecede daha yüksek bulundu (p=0.033). Postmenopozal dönemde OPG kontrollerde daha yüksek bulundu (p=0.012). Tüm denekler arasında açile ghrelin seviyeleri postmenopozal grupta en yüksekti (p= 0.001).

Sonuç olarak, bu çalışmanın sınırları içerisinde ghrelin serum seviyelerinin, periodontal hastalık patogeneğinde rol oynayan enflamatuvar sitokinler ve kemik yapım-yıkım metabolizmasının belirteçleri ile ilişkili olduğunu düşünebiliriz. Fakat bu hormonun periodontal patogenezdaki rolünü daha iyi değerlendirmek için serum seviyelerinin yanı sıra lokal olarak dişeti, kemik ve dişeti oluk sıvısı seviyelerinin değerlendirilmesi daha faydalı olabilir.

Anahtar sözcükler: Ghrelin, IL-1 β , periodontitis, postmenopoz, puberte.

SUMMARY

The Relationship Between Ghrelin and Bone Metabolism in Periodontitis at Different Stages of Life Cycles in Female Rats

Recent studies revealed that ghrelin has antiinflammatory and antioxidant effects as well as its known endocrinal functions. In this respect ghrelin is thought to play role in the pathogenesis of periodontal disease that is associated with increased proinflammatory cytokines and bone resorption.

The aim of this study was to correlate ghrelin and bone metabolism with inflammatory response in various periods of their lifespan of female rats with periodontitis.

Study population consisted of 30 female Wistar rats of which 10 pubertal, 10 adult and 10 postmenaupousal. Study group designed as; pubertal group=6 trial+4 control, adult group=6 trial+4 control and postmenaupousal group=6 trial+4 control. After Rompun 10 mg/kg and Xylazine 40 mg/kg ketamin anesthesia first and second maxillary molars of rats in the trial groups were ligatured using 3/0 silk suture material. On the 21st day intracardiac blood were collected from the trial and control groups following Rompun 10 mg/kg and Xylazine 40 mg/kg ketamin anesthesia and sacrifice was performed. Blood samples were collected into tubes with EDTA, centrifuged at 3000rpm for 10 minutes and concentrations of osteocalcin, osteoprotegerin, alkaline phosphatase, TNF- α , IL-1 β , acylated rat ghrelin, total rat ghrelin and sRANKL were tested by using ELISA kits. In order to assure the periodontal destruction has been realized the maxillary radiographies were taken following sacrifice.

In postmenaupousal group ghrelin was positively correlated with IL-1 β ($p=0.708$). ALP levels were significantly higher in trial group of pubertal rats ($p=0.033$). OPG was significantly higher in control group of postmenaupousal rats ($p=0.012$). Among all the trial rats postmenaupousal group was significantly highest for the acylated ghrelin levels ($p=0.001$).

We concluded that within the limitations of this study ghrelin serum levels were correlated with inflammatory cytokines and markers of bone modelling process. Nevertheless in order to evaluate the role of ghrelin in the periodontal pathogenesis there are needs to investigate its levels in gingival crevicular fluid, gingiva and bone as well as serum.

Key Words: Ghrelin, IL-1 β , periodontitis, postmenopause, puberty.

KAYNAKLAR

- ABBAS, A.K., LICHTMAN, A.H., POBER, J.S. (2000). Cytokines. In: *Cellular and Molecular Immunology*. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pober J.S., Eds. 4th Ed., USA: W.B. Saunders Company, p.235-269.
- ABE,T., AKAMINE, A., HARA, Y., MAEDA, K. (1994). Expression of membrane alkaline phosphatase activity on gingival fibroblasts in chronic inflammatory periodontal disease. *J. Periodontal. Res.*, **29**:259-265.
- ABRAHAM-INPIJN, L., POLSACHEVA, O. V. , RABER-DURLACHER, J. E. (1996). The significance of endocrine factors and microorganisms in the development of gingivitis in pregnant women. *Stomatologiia (Mosk)*, **75**: 15-18.
- ACADEMY REPORTS. (1999). The pathogenesis of periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, **70**, 457-470.
- ACHONG, R., NISHIMURA, I., RAMACHANDRAN, H., HOWELL, T.H., FIORELLINI, J.P., KARIMBUX, N.Y. (2003). Membrane type (MT) 1-matrix metalloproteinase (MMP) and MMP-2 expression in ligature-induced periodontitis in the rat. *J. Periodontol.*, **74**:494-500.
- AKAMIZU, T., SHINOMIYA, T., IRAKO, T., FUKUNAGA, M., NAKAI, Y., NAKAI, Y., KANGAWA, K. (2005). Separate measurement of plasma levels of acylated and desacyl ghrelin in healthy subjects using a new direct ELISA assay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **90**:6-9.
- ALENCAR, V.B.M., BEZERRA, M.M., LIMA, V., ABREU, A.L.C., BRITO, G.A.C., ROCHA, F.A.C., RIBEIRO, R.A. (2002). Disodium chlodronate prevents bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J. Periodontol.*, **73**:251-256.
- ALLAM, E., DRAZ, A., HASSAN, A., NEAMAT, A., GALAL, M., WINDSOR, L.J. (2010). Expression of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in ligature-induced periodontitis in osteoporotic and non-osteoporotic rats. *J. Periodontal. Res.*, **45**: 136-142.
- ALMEIDA, J.M., THEODORO, L.H., BOSCO, A.F., NAGATA, M.J.H., OSHIIWA, M., GARCIA, A.F. (2007). Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J. Periodontol.*, **78**:566-575.
- AMAR, S., CHUNG, K.M. (1994). Influence of hormonal variation on the periodontium in women. *Periodontology 2000*, **6**: 79-88.
- ANDERSON, M.A., MARASKOVSKY, E., BILLINGSLEY, W.L., DOUGALL, W.C., TOMETSKO, M.E., ROUX, E.R., TEEPE, M.C., DUBOSE, R.F., COSMAN, D., GALİBERT, L. (1997). A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature*, **390**: 175–9.
- ANDERWALD, C., BRABANT, G., BERNROIDER, E., HORN, R., BREHM, A., WALDHAUSL, W., RODEN, M. (2003). Insulin-dependent modulation of plasma ghrelin and leptin concentrations is less pronounced in type 2 diabetic patients. *Diabetes*, **52**:1792–1798.
- ANDREWS, P.L., SANGER, G.J. (2002). Abdominal vagal afferent neurones: an important target for the treatment of gastrointestinal dysfunction. *Curr. Opin. Pharmacol.*, **2**:650–656.
- ANGOLD, A., COSTELLO, E.J., ERKANLI, A., WORTHMAN, C.M. (1999). Pubertal changes in hormone levels and depression in girls. *Psychological Medicine*, **29**: 1043–1053.

- ANGOLD, A., WORTHMAN, C.W. (1993). Puberty onset of gender differences in rates of depression: a developmental, epidemiologic and neuroendocrine perspective. *Journal of Affective Disorders*, **29**: 145–158.
- ARIYASU, H., TAKAYA, K., HOSODA, H., IWAKURA, H., EBIHARA, K., MORI, K., OGAWA, Y., HOSODA, K., AKAMIZU, T., KOJIMA, M., KANGAWA, K., NAKAO, K. (2002). Delayed short-term secretory regulation of ghrelin in obese animals: evidenced by a specific ria for the active form of ghrelin. *Endocrinology*, **143**:3341–3350.
- ARIYASU, H., TAKAYA, K., TAGAMI, T., OGAWA, Y., HOSODA, K., AKAMIZU, T. (2001). Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelinlike immunoreactivity levels in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**(10): 4753–4758.
- ARMITAGE, G.C. (2000). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Northwest Dent.*, **79**(6): 31–35.
- ARMITAGE, G.C., CULLINAN, M.P. (2010). Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol. 2000*, **53**: 12–27.
- ASAKAWA, A., INUI, A., KAGA, T., YUZURIHA, H., NAGATA, T., FUJIMIYA, M., KATSUURA, G., MAKINO, S., FUJINO, M.A., KASUGA, M. (2001). A role of ghrelin in neuroendocrine and behavioral responses to stress in mice. *Neuroendocrinology*, **74**:143–147.
- ASSUMA, R., OATES, T., COCHRAN, D., AMAR, S., GRAVES, D.T. (1998). IL-1 and TNF antagonist inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J. Immunol.*, **160**: 403–409.
- AUDET-WALSH, E., LEPINE, J., GREGOIRE, J., PLANTE, M., CARON, P., TETU, B., AYOTTE, P., BRISSON, J., VILLENEUVE, L., BELANGER, A., GUILLEMETTE, C. (2011). Profiling of endogenous estrogens, their precursors, and metabolites in endometrial cancer patients: association with risk and relationship to clinical characteristics. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **96**:E330–E339.
- AYDIN, S., HALIFEOGLU, I., OZERCAN, I.H., ERMAN, F., KILIC, N., ILHAN, N. (2005). A comparison of leptin and ghrelin levels in plasma and saliva of young healthy subjects. *Peptides*, **26**(4): 647–652.
- AYDIN, S., OZKAN, Y., CAYLAK, E., AYDIN, S. (2006). Ghrelin ve biyokimyasal fonksiyonları. *Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.*, **26**:272–283.
- BAATAR, D., PATEL, K., TAUB, D.D. (2011). The effects of ghrelin on inflammation and the immune system. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **340**:44–58.
- BALKWILL, F.R., BURKE, F. (1989). The cytokine network. *Immunology Today*, **9**: 299–304.
- BANDARI, P., PRASAD, M.V., MARADI, A., PRADEEP, A.R., MALLIKA, A., SHARMA, D. (2012). Gingival crevicular fluid osteoprotegerin levels in Indian population. *Dent. Res. J. (Isfahan)*, **9**:774–782.
- BARAZZONI, R., BOSUTTI, A., STEBEL, M., CATTIN, M.R., RODER, E., VISINTIN, L. (2005). Ghrelin regulates mitochondrial-lipid metabolism gene expression and tissue fat distribution in liver and skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **288**(1): 228–235.
- BARKAN, A.L., DIMARAKI, E.V., JESSUP, S.K., SYMONS, K.V., ERMOLENKO, M., JAFFE, C.A. (2003). Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin,

- and not affected by the ambient growth hormone levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**(5): 2180-2184.
- BEAGRIE, G.S. (1966). Observations on cell biology of gingival tissues of mice. *Br. Dent. J.*, **121**:417-20.
- BECK, B., MUSSE, N., STRICKER-KRONGRAD, A. (2002). Ghrelin, macronutrient intake and dietary preferences in long-evans rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **292**:1031–1035.
- BEDNAREK, M.A., FEIGHNER, S.D., PONG, S.S., MCKEE, K.K., HRENIUK, D.L., SILVA, M.V. (2000). Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J. Med. Chem.* **43**(23): 4370-4376.
- BELLONE, S., RAPA, A., VIVENZA, D. (2004). Circulating ghrelin levels in the newborn are positively associated with gestational age. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, **60**:613-617.
- BELLONE, S., RAPA, A., VIVENZA, D., CASTELLINO, N., PETRI, A., BELLONE, J., ME, E., BROGLIO, F., PRODAM, F., GHIGO, E., Bona, G. (2002). Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *J. Endocrinol. Invest.*, **25**:RC13–RC15.
- BENNETT, D. L., WARD, M. S., AND DANIEL, W. A., JR. (1976). The relationship of serum alkaline phosphatase concentrations to sex maturity ratings in adolescents. *J. Pediatr.*, **88**:633.
- BERGLUNDH, T., DONATI, M. (2005). Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, **32**(6): 87-107.
- BEZERRA, M.M., LIMA, V., ALENCAR, V.B.M., VIEIRA, I.B., BRITO, G.A.C., RIBEIRO, R.A., ROCHA, F.A.C. (2000). Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J. Periodontol.*, **71**:1009-1014.
- BISSADA, N.F., SCHAFFER, E.M., LAZAROW, A. (1966). Effects of alloxan diabetes and local irritating factors on the periodontal structures of rat. *Periodontics*, **4**:233-240.
- BLAIR, J.M., ZHENG, Y., DUNSTAN, C.R. (2007). RANK ligand. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **39**: 1077-1081.
- BOSTANCI, N., ILGENLI, T., EMINGIL, G., AFACAN, B., HAN, B., TOZ, H., ATILLA, G., HUGHES, F.J., BELIBASAKIS, G.N. (2007). Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J. Clin. Periodontol.*, **34**(5):370-6.
- BOWERS, C.Y., MOMANY, F., REYNOLDS, G.A., CHANG, D., HONG, A., CHANG, K. (1980). Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone in vitro. *Endocrinology*, **106**:663-667.
- BOYCE, B.F., XING, L. (2007). Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res. Ther.*, **9**:1.
- BOYCE, B.F., XING, L. (2008). Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **473**: 139–146.
- BRANCO DE ALMEIDA, L.S., FRANCO, G.C.N., CASTRO, M.L., SANTOS, J.G., ANBINDER, A.L., CORTELLI, S.C., KAJIYA, M., KAWAI, T., ROSALEN, P.L. (2012). Fluoxetine inhibits inflammatory response and bone loss in a rat model of ligature-induced periodontitis. *J. Periodontol.*, **83**:664-671.

- BROGLIO, F., BENSO, A., CASTIGLIONI, C., GOTTERO, C., PRODAM, F., DESTEFANIS, S. (2003). The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**(4): 1537-1542.
- BROGLIO, F., GOTTERO, C., PRODAM, F., GAUNA, C., MUCCIOLI, G., PAPOTTI, M. (2004). Non-acylated ghrelin counteracts the metabolic but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **89**(6): 3062-3065.
- BROGLIO, F., KOETSVELD, P.P., BENSO, A., GOTTERO, C., PRODAM, F., PAPOTTI, M., MUCCIOLI, G., GAUNA, C., HOFLAND, L., DEGHENGI, R., ARVAT, E., VAN DER LELY, A.J., GHIGO, E. (2002). Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**:4829-4832.
- BUCHANAN, C.M., ECCLES, J.S., BECKER, J.B. (1992). Are adolescents the victims of raging hormones: evidence for activational effects of hormones on moods and behavior at adolescence. *Psychological Bulletin*, **111**: 62-107.
- BUDUNELI, N., BIYIKOGLU, B., SHERREBEH, S., LAPPIN, D.F. (2008). Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegerin in smoker versus non-smoker chronic periodontitis patients. *J. Clin. Periodontol.*, **35**:846-852.
- BUDUNELI, N., BIYIKOGLU, B., SHERREBEH, S., LAPPIN, D.F. (2009). Interleukin-17, RANKL, and osteoprotegerin levels in gingival crevicular fluid from smoking and non-smoking patients with chronic periodontitis during initial periodontal treatment. *J. Periodontol.*, **80**:1274-1280.
- CAETANO-LOPES, J., CANHAO, H., FONSECA, J.E. (2007). Osteoblasts and bone formation. *Acta. Reumatol. Port.*, **32**: 103-110.
- CALLAHAN, H.S., CUMMINGS, D.E., PEPE, M.S., BREEN, P.A., MATTHYS, C.C., WEIGLE, D.S. (2004). Postprandial suppression of plasma ghrelin level is proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **89**(3): 1319-1324.
- CAMINOS, J.E., SEOANE, L.M., TOVAR, S.A., CASANUEVA, .F.F, DIEGUEZ, C. (2002). Influence of thyroid status and growth hormone deficiency on ghrelin. *Eur. J. Endocrinol.*, **147**(1):159-163.
- CARLINI, V.P., MONZON, M.E., VARAS, M.M., CRAGNOLINI, A.B., SCHIOTH, H.B., SCIMONELLI, T.N., DE BARIOGLIO, S.R. (2002). Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **299**:739-743.
- CARRANZA, F.A. JR, SIMES, R.J., MAYO, J., CABRINI, R. (1971). Histometric evaluation of periodontal bone loss in rats. *J. Periodont. Res*, **6**:65-72.
- CARRANZA, F.A., FIORELLINI, J.P., KIM, D.M., UZEL, N.G. (2011b). Gingival Inflammation. In: *Carranza's Clinical Periodontology*. Newman, M.G., Takei, H.H., Klokkevold, P.R., Carranza, F.A., Eds. 11th Ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, 71-75.
- CARRANZA, F.A., HINRICHS, J.E., NOVAK, M.J. (2011a). Classification of Diseases and Conditions Affecting the Periodontium. In: *Carranza's Clinical Periodontology*. Newman, M.G., Takei, H.H., Klokkevold, P.R., Carranza, F.A., Eds. 11th Ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, 34-54.
- CARRANZA, F.A., OTOMO-CORGEL, J. (2011c). Periodontal therapy in the female patient. In: *Carranza's Clinical Periodontology*. Newman, M.G., Takei, H.H., Klokkevold, P.R., Carranza, F.A., Eds. 11th Ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, 412-421.

- CASANUEVE, F.F., DIEGUEZ, C. (2002). ghrelin a new hormone implicated in the regulation of growth hormone secretion and body energy homeostasis. *rev. end. metab.*, **3**:325-338.
- CHAN, J.L., BULLEN, J., LEE, J.H., YIANNAKOURIS, N., MANTZOROS, C.S. (2004). Ghrelin levels are not regulated by recombinant leptin administration and/or three days of fasting in healthy subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **89**(1): 335-343.
- CHAN, J.L., BULLEN, J., LEE, J.H., YIANNAKOURIS, N., MANTZOROS, C.S. (2004). Ghrelin levels are not regulated by recombinant leptin administration and/or three days of fasting in healthy subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **89**:335-343.
- CHEN, C.C., CHANG, K.L., HUANG, J.F., HUANG, J.S., TSAI, C.C. (1997). Correlation of interleukin-1 beta, interleukin-6, and periodontitis. *Kaohsiung J. Med. Sci.*, **13**: 609-617.
- CHOW, K.B., CHENG, C.H., WISE, H. (2009). Anti-Inflammatory Activity of Ghrelin in Human Carotid Artery Cells. *Inflammation*, **32**:402-409.
- CHRISTENSON, R.H. (1997). Biochemical Markers of Bone Metabolism: An Overview. *Clinical Biochemistry*, **30** (8): 573-593
- CHRISTIANSEN, C. (1993). Skeletal osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.*, **8**(2):S475-S480.
- CLARKE, C.L., SUTHERLAND, R.L. (1990). Progestin regulation of cellular proliferation. *Endocr. Rev.*, **11**:266-301.
- COBB, C.M., WILLIAMS, K.B., GERKOVITCH, M.M. (2009). Is the prevalence of periodontitis in the USA in decline? *Periodontol. 2000*, **50**: 13-24.
- COCHRAN, D.L. (2008). Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J. Periodontol.*, **79**:1569-1576.
- COPINSCHI, G., LEPROULT, R., VANONDERBERGEN, A., CAUFRIEZ, A., COLE, K.Y., SCHILLING, L.M., MENDEL, C.M., DELEPELEIRE, I., BOLOGNESE, J.A., VANCAUTER, E. (1997). Prolonged oral treatment with MK- 677, a novel growth hormone secretagogue, improves sleep quality in man. *Neuroendocrinology*, **66**:278-286.
- CORBETTA, S., PERACCHI, M., CAPIELLO, V. (2003). Circulating ghrelin levels in patients with pancreatic and gastrointestinal neuroendocrine tumors: Identification of one pancreatic ghrelinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**:3117-3120.
- COWLEY, M.A., SMITH, R.G., DIANO, S., TSCHOP, M., PRONCHUK, N., GROVE, K.L., STRASBURGER, C.J., BIDLINGMAIER, M. ESTERMAN, M., HEIMAN, M.L., GARCIA-SEGURA, L.M., NILLNI, E.A., MENDEZ, P., LOW, M.J., SOTONYI, P., FRIEDMAN, J.M., LIU, H., PINTO, S., COLMERS, W.F., CONE, R.D., HORVATH, T.L. (2003). The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, **37**:649-661.
- CROTTI, T., SMITH, M.D., HIRSCH, R., SOUKOULIS, S., WEEDON, H., CAPONE, M., AHERN, M.J., HAYNES, D. (2003). Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J. Periodontal. Res.*, **38**:380-87.
- CUMMINGS, D.E., PURNELL, J.Q., FRAYO, R.S., SCHMIDOVA, K., WISSE, B.E., WEIGLE, D.S. (2001). A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*, **50**:1714-1719.

- CUMMINGS, D.E., WEIGLE, D.S., FRAYO, R.S., BREEN, P.A., MA, M.K., DELLINGER, E.P., PURNELL, J.Q. (2002). Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N. Engl. J. Med.*, **346**:1623–1630.
- DALTABAN, O., SAYGUN, I., BAL, B., BALOS, K., SERDAR, M. (2006). Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase levels in postmenopausal women: effects of phase I periodontal treatment. *J. Periodontol.*, **77**: 67-72.
- DATE, Y., KOJIMA, M., HOSODA, H., SAWAGUCHI, A., MONDAL, M.S., SUGANUMA, T. (2000). Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*, **141**(11): 4255-4261.
- DATE, Y., NAKAZATO, M., HASHIGUCHI, S., DEZAKI, K., MONDAL, M.S., HOSODA, H. (2002). Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes*, **51**(1): 124-129.
- DE VRIESE, C., HACQUEBARD, M., GREGOIRE, F., CARPENTIER, Y., DELPORTE, C. (2007). Ghrelin interacts with human plasma lipoproteins. *Endocrinology*, **148**(5): 2355-2362.
- DELALEU, N., BICKEL, M. (2004). Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontol. 2000*, **35**: 42-52.
- DELIMA, A.J., OATES, T., ASSUMA, R., SCHWARTZ, Z., COCHRAN, D., AMAR, S. (2001). Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, **28**:233-240.
- DENG, F., LING, J., MA, J., LIU, C., ZHANG, W. (2008). Stimulation of intramembranous bone repair in rats by ghrelin. *Exp. Physiol.* **93**(7): 872-879.
- DEVOGALAER, J.P., BROLL, H., CORREA-ROTTER, R. (1996). Oral alendronate induces progressive increases in bone mass of the spine, hip, and total body over 3 years in postmenopausal women with osteoporosis. *Bone*, **18**: 141–50.
- DINARELLO, C.A. (1996). Biologic basis of interleukin-1 in disease. *Blood*, **15**:2095-2147.
- DINARELLO, C.A. (1998). Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *International Reviews of Immunology*, **16**: 457-499.
- DIXIT, V.D., SCHAFFER, E.M., PYLE, R.S., COLLINS, G.D., SAKTHIVEL, S.K., PALANIAPPAN, R. (2004). Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J. Clin. Invest.* **114**(1):57-66.
- DOMON, T., SUZUKI, R., TAKATA, K., YAMAZAKI, Y., TAKAHASHI, S., YAMAMOTO, T., WAKITA, M. (2001). The nature and function of mononuclear cells on the resorbed surfaces of bone in the reversal phase during remodeling. *Annals Anatomy*, **183**:103-110.
- DORNONVILLE DE LA COUR, C., LINDSTROM, E., NORLEN, P., HAKANSON, R. (2004). Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul. Pept.*, **120**(1-3): 23-32.
- DRUCE, M., BLOOM, S.R. (2003). Central regulators of food intake. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **6**:361-367.
- DUARTE P.M., NETO, J.B., CASATI, M.Z., SALLUM, E.A., NOCITI, F.H. JR. (2007). Diabetes modulates gene expression in the gingival tissues of patients with chronic periodontitis. *Oral Dis.*, **13**:594-599.

- EBERSOLE, J.L., CAPPELLI, D. (2000). Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontology 2000*, **23**: 19-49.
- EBERSOLE, J.L., SINGER, R.E., STEFFENSEN, B., FILLOON, T., KORNMAN, K.S. (1993). Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites. *Journal of Periodontal Research*, **28**: 543-546.
- EL-ATTAR, T.M.A. (1976). Prostaglandin E2 in human gingiva in health and disease and its stimulation by female sex steroids. *Prostaglandins*, **11**: 331-341.
- ENGBRETSON, S.P., GRBIC, J.T., SINGER, R., LAMSTER, I.B. (2002). GCF IL-1 β profiles in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, **29**: 48-53.
- EPSTEIN, S. (1988). Serum and urinary markers of bone remodeling: assessment of bone turnover. *Endocrine Reviews*, **9**: 437-48.
- ERDEMIR, E.O., DURAN, I., HALILOGLU, S. (2004). Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in patients with chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, **31**: 99-104.
- EVERTS, V., DELAISSE, J.M., KORPER, W., JANSEN, D.C., TIGCHELAAR-GUTTER, W., SAFTIG, P., BEERTSEN, W. (2002). The bone lining cell: its role in cleaning howship's lacunae and initiating bone formation. *J. Bone Miner. Res.*, **17**:77-90.
- FEDDE, K.N., COLE, D.E.C., WHYTE, M.P. (1990). Pseudohypophosphatasia: aberrant localization and substrate specificity of alkaline phosphatase in cultured skin fibroblasts. *Am. J. Hum. Genet.*, **47**:776-783.
- FERRIS, G.M. (1993). Alteration in female sex hormones: their effect on oral tissues and dental treatment. *Compendium*, **14**:1558- 1570.
- FILI, S., KARALAKI, M., SCHALLER, B. (2009). Therapeutic implications of osteoprotegerin. *Cancer Cell Int.*, **9**: 26.
- FLEISHER, G.A., EICKELBERG, E.S., ELVEBACK, L.R. (1977). Alkaline phosphatase activity in the plasma of children and adolescents. *Clin. Chem.*, **23**:469-472.
- FLEMMIG, T.F. (1999) Periodontitis. *Ann. Periodontol.*, **4**(1): 32-38.
- FORD, J. J., D'OCCHIO, M. J. (1989). Differentiation of sexual behavior in cattle, sheep and swine. *Journal of Animal Science*, **67**: 1816-1823.
- FRIEBOES, R.M., MURCK, H., MAIER, P., SCHIER, T., HOLLSBOER, F., STEIGER, A. (1995). Growth hormone-releasing peptide-6 stimulates sleep, growth hormone, ACTH and cortisol release in normal man. *Neuroendocrinology*, **61**:584-589.
- FRIEDLANDER, A.H. (2002). The physiology, medical management and oral implications of menopause. *J. Am. Dent. Assoc.*, **133**(1):73-81.
- FROST, H.M. (1964). Dynamics of bone remodeling. In: Frost HM, ed. Bone biodynamics. Boston: Little Brown, 315-333.
- FUKUSHIMA, N., HANADA, R., TERANISHI, H., FUKUE, Y., TACHIBANA, T., ISHIKAWA, H. (2005). Ghrelin directly regulates bone formation. *J. Bone Miner. Res.*, **20**(5): 790-798.
- GAMBONE, J.C. (2003). How we got to the Women's Health Initiative hormone replacement trial. *J. Am. Osteopath. Assoc.*, **103**(2 Suppl 2):S1-S2.

- GAMONAL, J., ACEVEDO, A., BASCONES, A., JORGE, O., SILVA, A. (2000). Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and effect of periodontal treatment. *Journal of Periodontology*, **71**: 1535-1545.
- GAUNA, C., VAN DE ZANDE, B., VAN KERKWIJK, A., THEMME, A.P., VAN DER LELY, A.J., DELHANTY, P.J. (2007). Unacylated ghrelin is not a functional antagonist but a full agonist of the type 1a growth hormone secretagogue receptor (GHS-R). *Mol. Cell Endocrinol.*, **274**(1-2): 30-34.
- GAYTAN, F., BARREIRO, M.L., CHOPIN, L.K. (2003). Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclichuman ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**:4139-4143.
- GEMMELL, E., MARSHALL, R.I., SEYMOUR, G.J. (1997). Cytokines and prostoglandins in immun homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000*, **14**: 112-143.
- GIBERT, P., TRAMINI, P., SIESO, V., PIVA, M.T. (2003). Alkaline phosphatase isozyme activity in serum from patients with chronic periodontitis. *J. Periodontal. Res.* **38**: 362-365.
- GLASS, D.A. 2nd, BIALEK, P., AHN, J.D., STARBUCK, M., PATEL, M.S., CLEVERS, H., TAKETO, M.M., LONG, F., MCMAHON, A.P., LANG, R.A., KARSENTY, G. (2005). Canonical Wnt Signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev. Cell*, **8**:751-764.
- GNANAPAVAN, S., KOLA, B., BUSTIN, S.A., MORRIS, D.G., MCGEE, P., FAIRCLOUGH, P. (2002). The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**(6): 2988.
- GONZALEZ-GAY, M.A., GARCIA-UNZUETA, M.T., BERJA, A., VAZQUEZ-RODRIGUEZ, T.R., GONZALEZ-JUANATEY, C., DE MATIAS, J.M. (2008). Anti-tumour necrosis factor alpha therapy modulates ghrelin in patients with severe rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, **67**: 1644-1646.
- GORNSTEIN, R.A., LAPP, C.A., BUSTOS-VALDES, S.M., ZAMORANO, P. (1999). Androgens modulate interleukin-6 production by gingival fibroblasts in vitro. *J. Periodontol.*, **70**:604-609.
- GORSKA, R., GREGOREK, H., KOWALSKI, J., LASKUS-PERENDYK, A., SYCZEWSKA, M., MADALINSKI, K. (2003). Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, **30**: 1046-1052.
- GOUTOUDI, P., DIZA, E., ARVANITIDOU, M. (2004). Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J. Dent.*, **32**(7): 511-520.
- GRANO, M., GALIMI, F., ZAMBONIN, G., COLUCCI, S., COTTONE, E., ZALLONE, A.Z., COMOGLIO, P.M. (1996). Hepatocyte growth factor is a coupling factor for osteoclasts and osteoblasts in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **93**: 7644-7648.
- GRAVES, D.T., COCHRAN, D. (2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J. Periodontol.*, **74**:391-401.
- GRAY, C., BOYDE, A., JONES, S.J. (1996). Topographically induced bone formation in vitro: Implications for bone implants and bone grafts. *Bone*, **18**:115-123.

- GREENMAN, Y., ROUACH, V., LIMOR, R., GILAD, S., STERN, N. (2009). Testosterone is a strong correlate of ghrelin levels in men and postmenopausal women. *Neuroendocrinology*, **89**(1): 79-85.
- GUALILLO, O., CAMINOS, J.E., KOJIMA, M., KANGAWA, K., ARVAT, E., GHIGO, E., CASANUEVA, F.F., DIEGUEZ, C. (2001). Gender and gonadal influences on ghrelin mRNA levels in rat stomach. *Eur. J. Endocrinol.* **144**:687–690.
- HALPERN, C.T., UDRY, J.R., SUCHINDRAN, C. (1998). Monthly measures of salivary testosterone predict sexual activity in adolescent males. *Archives of Sexual Behavior*, **27**: 445–465.
- HANSEN, T.K., DALL, R., HOSODA, H., KOJIMA, M., KANGAWA, K., CHRISTIANSEN, J.S., JORGENSEN, J.O. (2002). Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, **56**:203–206.
- HARSCH, I.A., KONTUREK, P.C., KOEBNICK, C. (2003). Leptin and ghrelin levels in patients with obstructive sleep apnoea: Effect of CPAP treatment. *Eur. Respir. J.*, **22**:251-257.
- HATTNER, R., EPKER, B.N., FROST, H.M. (1965). Suggested sequential mode of control of changes in cell behaviour in adult bone remodeling. *Nature*, **206**: 489-490.
- HATTORI, N. (2009). Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. *Growth Horm. IGF Res.*, **19**(3): 187-197.
- HATTORI, N., SAITO, T., YAGYU, T., JIANG, B.H., KITAGAWA, K., INAGAKI, C. (2001). GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **86**(9): 4284-4291.
- HERRERA, B.S., MARTINS-PORTO, R., MAIA-DANTAS, A., CAMPI, P., SPOLIDORIO, L.C., COSTA, S.K.P., VAN DYKE, T.E., GYURKO, R., MUSCARA, M.N. (2011). iNOS-derived nitric oxide stimulates osteoclast activity and alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis in rats. *J. Periodontol.*, **82**:1608-1615.
- HIGHFIELD, J. (2009). Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian Dental Journal*, **54**(1): 11-26.
- HOFBAUER, L.C. (1999). Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *Eur. J. Endocrinol.* **141**: 195–210.
- HOFBAUER, L.C., SCHOPPET, M. (2004). Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA*, **292**:490-495.
- HOFMANN, R., LEHMER, A., BRAUN, J., BAUER, S. (1986). Activity of phagocytic granulocytes in patients with prostatic cancer. *Urol. Res.*, **14**:327-330.
- HOLZHAUSEN, M., ROSSA JR, C., MARCANTONIA JR, E., NASSAR, P.O., SPOLIDORIO, D.M.P., SPOLIDORIO, L.C. (2002). Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J. Periodontol.*, **73**:1030-1036.
- HONDA, T., DOMON, H., OKUI, T., KAJITA, K., AMANUMA, R., YAMAZAKI, K. (2006). Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. *Clinical and Experimental Immunology*, **144**: 35-40.
- HORVATH, T.L., DIANO, S., SOTONYI, P., HEIMAN, M., TSCHOP, M. (2001). Minireview: ghrelin and the regulation of energy balance--a hypothalamic perspective. *Endocrinology*, **142**(10): 4163-4169.

- HOSODA, H., DOI, K., NAGAYA, N., OKUMURA, H., NAKAGAWA, E., ENOMOTO, M. (2004). Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples. *Clin. Chem.*, **50**: 1077-1080.
- HOSODA, H., KOJIMA, M., KANGAWA, K. (2002). Ghrelin and the regulation of food intake and energy balance. *Mol. Interv.*, **2**:494-503.
- HOU, L.T., LIU, C.M., LIU, B.Y., LIN, S.J., LIAO, C.S., ROSSOMANDO, E.F. (2003). Interleukin-1 β , clinical parameters and matched cellular histopathologic changes of biopsied gingival tissue from periodontitis patients. *Journal of Periodontal Research*, **38**: 247-254.
- HOWARD, A.D., FEIGHNER, S.D., CULLY, D.F., LIBERATOR, P.A., ARENA, J.P., ROSENBLUM, C.I., HAMELIN, M.J., HRENIUK, D.L., PALYHA, O.C., ANDERSON, J., PARESS, P.S., DIAZ, C., CHOU, M., LIU, K., KULJUMCKEE, K., PONG, S.S., CHAUNG, L.Y., ELBRECHT, A., DASHKEVICZ, M., HEAVENS, R., RIGBY, M., SIRINATHSINGHI, D.J.S., DEAN, D.C., MELILLO, D.G., PATCHETT, A.A., NARGUND, R., GRIFFIN, P.R., DEMARTINO, J.A., GUPTA, S.K., SCHAEFFER, J.M., SMITH, R.G., VAN DER PLOEG, L.H.T. (1996). A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*, **273**:974-977.
- HUANG, C.X., YUAN, M.J., HUANG, H., WU, G., LIU, Y., YU, S.B. (2009). Ghrelin inhibits postinfarct myocardial remodeling and improves cardiac function through antiinflammation effect. *Peptides*, **30**(12): 2286-2291.
- INAGAKI, K., KUROSU, Y., KAMIYA, T., KONDO, F., YOSHINARI, N., NOGUCHI, T., KRALL, E.A., GARCIA, R.I. (2001). Low metacarpal bone density, tooth loss, and periodontal disease in Japanese women. *J. Dent. Res.*, **80**(9):1818-1822.
- INGELSSON, E., LARSON, M.G., YIN, X., WANG, T.J., MEIGS, J.B., LIPINSKA, I. (2008). Circulating ghrelin, leptin, and soluble leptin receptor concentrations and cardiometabolic risk factors in a community-based sample. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **93**: 149- 3157.
- ISHIKAWA, I., CIMASONI, G. (1970). Alkaline phosphatase in human gingival fluid and its relation to periodontitis. *Arch. Oral Biol.*, **15**:1401-1404.
- ITO, I., HAYASHI, T., YAMADA, K., KUZUYA, M., NAITO, M., IGUCHI, A. (1995). Physiological concentration of estradiol inhibits polymorphonuclear leukocyte chemotaxis via a receptor mediated system. *Life Sci.*, **56**:2247-2253.
- JABBAR, S., DRURY, J., FORDHAM, J., DATTA, H.K., FRANCIS, R.M., TUCK, S.P. (2011). Plasma vitamin D and cytokines in periodontal disease and postmenopausal osteoporosis. *J. Periodontol. Res.*, **46**:97-104.
- JANEWAY, C.A.J.M. (2002). Innate immun recognition. *Annual Review of Immunology*, **20**: 197-216.
- JARDINSKI, J.J., STASHENKO, P., FEDER, L.S., LEUNG, C.C., PEROS, W.J., RYNAR, J.E. (1991). Localization of interleukin-1 β in human periodontal tissue. *Journal of Periodontology*, **62**: 36-43.
- KADOR, P.F., O'MEARA, J.D., BLESSING, K., MARX, D.B., REINHARDT, R.A. (2011). Efficacy of structurally diverse aldose reductase inhibitors on experimental periodontitis in rats. *J. Periodontol.*, **82**: 926-933.
- KANTERO, R.L., WIDE, L., WIDHOLM, O. (1975). Endocrine changes before and after the menarche. II. Serum levels of growth hormone and alkaline phosphatase, and urinary excretion of 17-ketosteroids and 17-hydroxycorticosteroids. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, **54**:1.

- KARMIRIS, K., KOUTROBAKIS, I.E., KOUROUMALIS, E.A. (2008). Leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin--implications for inflammatory bowel disease. *Mol. Nutr. Food Res.*, **52**(8): 855-866.
- KATERGARI, S.A., MILOUSIS, A., PAGONOPOULOU, O., ASIMAKOPOULOS, B., NIKOLETTOS, N.K. (2008). Ghrelin in pathological conditions. *Endocr. J.*, **55**: 439-453.
- KAWAI, T., MATSUYAMA, T., HOSOKAWA, Y., MAKIHIRA, S., SEKI, M., KARIMBUX, N.Y., GONCALVES, R.B., VALVERDE, P., DIBART, S., LI, Y.P., MIRANDA, L.A., ERNST, C.W., IZUMI, Y., TAUBMAN, M.A. (2006). B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am. J. Pathol.*, **169**(3), 987-98.
- KAWASHIMA, J., OHNO, S., SAKURADA, T., TAKABAYASHI, H., KUDO, M., RO, S., KATO, S., YAKABI, K. (2009). Circulating acylated ghrelin level decreases in accordance with the extent of atrophic gastritis. *J. Gastroenterol.*, **44**: 1046-1054.
- KELLOKOSKI, E., POYKKO, S.M., KARJAKAINEN, A.H., UKKOLA, O., HEIKKINEN, J., KESANIEMI, Y.A., HORKKO, S. (2005). Estrogen replacement therapy increases plasma ghrelin levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **90**: 2954-2963.
- KELSO, A. (1990). Cytokines in infectious disease. *Microbiology Australia*, **11**: 372-376.
- KELSO, A. (1995). Th1 and Th2 subsets: paradigms lost? *Immunology Today*, **16**: 374-379.
- KEREM, M., BEDIRLI, A., PASAOGLU, H., UNSAL, C., YILMAZ, T.U., OFLUOGLU, E., SAHIN, T.T. (2007). Role of ghrelin and leptin in predicting the severity of acute pancreatitis. *Dig. Dis. Sci.*, **52**: 950-955.
- KHOSLA, S. (2001). Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*, **142**: 5050-5.
- KIESLINGER, M., FOLBERTH, S., DOBREVA, G., DORN, T., CROCI, L., ERBEN, R., CONSALEZ, G.G., GROSSCHEDI, R. (2005). EBF2 regulates osteoblast-dependent differentiation of osteoclasts. *Dev. Cell*, **9**: 757-767.
- KIM, S.W., HER, S.J., PARK, S.J., KIM, D., PARK, K.S., LEE, H.K. (2005). Ghrelin stimulates proliferation and differentiation and inhibits apoptosis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Bone*, **37**(3): 359-369.
- KINANE, D.F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, **25**: 8-20.
- KOJIMA, M., HOSODA, H., DATE, Y., NAKAZATO, M., MATSUO, H., KANGAWA, K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; **402**(6762):656-660.
- KOJIMA, M., KANGAWA, K. (2005). Ghrelin: structure and function. *Physiol. Rev.*, **85**(2):495-522.
- KORBONITS, M., GOLDSTONE, A.P., GUEORGUIEV, M., GROSSMAN, A.B. (2004). Ghrelin--a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol.*, **25**(1): 27-68.
- KORNMAN, K.S. (2008). Mapping the pathogenesis: a new look. *J. Periodontol.*, **79**: 1560-1568.
- KORNMAN, K.S., PAGE, R.C., TONETTI, M.S. (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000*, **14**: 33-53.
- KREJCI, C.B. (2001). Women's health issues and their relationship to periodontitis. *J. Am. Dent. Assoc.*, **133**(3):323-329.

- KUBOTA, K., SAKIKAWA, C., KATSUMATA, M., NAKAMURA, T., WAKABAYASHI, K. (2002). Platelet-derived growth factor BB secreted from osteoclasts acts as an osteoblastogenesis inhibitory factor. *J. Bone Miner. Res.*, **17**:257-265.
- KURBAN, S., MEHMETOGLU, I. (2007). Osteoprotegerin, Rank ve Rank Ligandı. *Türk Biyokimya Dergisi (Turkish Journal of Biochemistry)*, **32** (4): 178–184.
- KURKLU S. (2003). Düşük doğum ağırlıklarına sahip bebek dünyaya getiren bayanlarda periodontal durumun değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- KURU, I., GRIFFITHS, G.S. PETRIE, A., OLSEN, I. (1999). Alkaline phosphatase activity upregulated in regenerating human periodontal cells. *J. Periodontal. Res.*, **34**:123-127.
- LACEY, D.L., TIMMS, E., TAN, H.L., KELLY, M.J., DUNSTAN, C.R., BURGESS, T., ELLIOTT, R., COLOMBERO, A., ELLIOTT, G., SCULLY, S., HSU, H., SULLIVAN, J., HAWKINS, N., DAVY, F., CAPPARELLI, C., ELI, A., QIAN, Y.X., KAUFMAN, S., SAROSI, I., SHALBOUB, V., SENALDI, G., GUO, J., DELANEY, J., BOYLE, W.J. (1998). Osteoprotegerin (OPG) ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*, **93**: 165–176.
- LAGASSE, E., WEISMANN, I.L. (1997). Enforced expression of Bcl-2 in monocytes rescues macrophages and partially reverses osteopetrosis in *op/op* mice. *Cell*, **89**:1021-1031.
- LANDI, L., AMAR, S., POLINS, A.S., VAN DYKE, T.E. (1997). Host mechanisms in the pathogenesis of periodontal disease. *Current Opinion in Periodontology*, **4**: 3-10.
- LARSEN, G.L.H. (1993). Mediators of inflammation. *Annual Review of Immunology*, **1**: 335-359.
- LAUFER, N., NAVOT, D., SCHENKER, J. G. (1982). The pattern of luteal phase plasma progesterone and estradiol in fertile cycles. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **143**: 808–813.
- LEONETTI, F., IACOBELLIS, G., RIBAUDO, M.C. (2004). Acute insülin infusion decreases plasma ghrelin levels in uncomplicated obesity. *Regul. Pept.*, **122**:179-183.
- LEONETTI, F., SILECCHIA, G., IACOBELLIS, G., RIBAUDO, M.C., ZAPPATERRENO, A., TIBERTI, C., IANNUCCI, C.V., PERROTTA, N., BACCI, V., BASSO, M.S., BASSO, N., DI MARIO, U. (2003). Different plasma ghrelin levels after laparoscopic gastric bypass and adjustable gastric banding in morbid obese subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**:4227–4231.
- LI, L., ZHANG, L.K., PANG, Y.Z., PAN, C.S., QI, Y.F., CHEN, L. (2006). Cardioprotective effects of ghrelin and des-octanoyl ghrelin on myocardial injury induced by isoproterenol in rats. *Acta Pharmacol. Sin.*, **27**(5): 527-535.
- LI, W.G., GAVRILA, D., LIU, X., WANG, L., GUNNLAUGSSON, S., STOLL, L.L. (2004). Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation*, **109**: 2221-2226.
- LIEW, F.Y. (2002). TH1 and TH2 cells: a historical perspective. *Nature reviews. Immunology*, **2**: 55-60.
- LINDEMAN, J.H., PIJL, H., VAN DIELEN, F.M., LENTJES, E.G., VAN LEUVEN, C., KOOISTRA, T. (2002). Ghrelin and the hypsomatotropicism of obesity. *Obes. Res.*, **10**:1161–1166.

- LINDHE, J., BJORN, A. L. (1967). Influence of hormonal contraceptives on the gingiva of women. *Journal of Periodontal Research*, **2**: 1–6.
- LINDHE, J., LILJENBERG, B., LISTGARTEN, M. (1980). Some microbiological features of periodontal disease in man. *J. Periodontol.*, **51**:264-269.
- LISTGARTEN, M.A. (1986). Pathogenesis of periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, **13**: 418-430.
- LIU, L.Y., YAKAR, S., OTERO-CORCHON, V., LOW, M.J., LIU, J.L. (2002). Ghrelin gene expression is age-dependent and influenced by gender and the level of circulating IGF-1. *Mol. Cell Endocrinol.*, **189**:97-103.
- LIU, Y.C., LERNER, U.H., TENG, Y.T. (2010). Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*, **52**(1): 163-206.
- LOESCHE, W.J., GROSSMAN, N.S. (2001). Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin. Microbiol.*, **14**(4): 727-752
- LORENZO, J. (2003). A new hypothesis for how sex steroid hormones regulate bone mass. *J. Clin. Invest.*, **111**:1641-1643.
- LU, S., GUAN, J.L., WANG, Q.P., UEHARA, K., YAMADA, S., GOTO, N. (2002). Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci. Lett.*, **321**(3): 157-160.
- MA, S., GUO, J., YOU, X., XIA, W., YAN, F. (2011). Expressions of Interleukin-1beta and Interleukin-6 Within Aortas and Uteri of Rats with Various Severities of Ligature-Induced Periodontitis. *Inflammation*, **34**:260-268.
- MACCARINELLI, G., SIBILIA, V., TORSELLO, A., RAIMONDO, F., PITTO, M., GIUSTINA, A. (2005). Ghrelin regulates proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *J. Endocrinol.*, **184**(1): 249-256.
- MAKHLUF, H.A., MUELLER, S.M., MIZUNO, S., GLOWACKI, J. (2000). Age-related decline in Opg expression by human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *Biochem. Biophysil. Res. Commun.*, **268**:669-72.
- MANOLAGAS, S.C. (2000). Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr. Rev.*, **21**: 115-137.
- MARCHESINI, G., PAGOTTO, U., BUGIANESI, E. (2003). Low ghrelin concentrations in nonalcoholic fatty liver disease are related to insulin resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**:5674-5679.
- MARIOTTI, A. (1994). Sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.*, **5**: 27–53.
- MARIOTTI, A. (1999) Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann. Periodontol.*, **4**(1): 7-19.
- MARKOU, E., ELEANA, B., LAZAROS, T., ANTONIOS, K. (2009). The influence of sex steroid hormones on gingiva of women. *The Open Dentistry Journal*, **3**: 114-119.
- MARUNA, P., GURLICH, R., FRASKO, R., ROSICKA, M. (2005). Ghrelin and leptin elevation in postoperative intra-abdominal sepsis. *Eur. Surg. Res.*, **37**:354-359.
- MASCARENHAS, P., GAPSKI, R., AL-SHAMMARI, K., WANG, H.L.(2003). Influence of sex hormones on periodontium. *J. Clin. Periodontol.*, **30**: 671-681.

- MASUDA, Y., TANAKA, T., INOMATA, N., OHNUMA, N., TANAKA, S., ITOH, Z. (2000). Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **276**(3): 905-908.
- MATSUMOTO, M., MARIATHASAN, S., NAHM, M., BARANYAY, F., PESCHON, J., CHAPLIN, D. (1996). Role of lymphotoxin and the type 1TNF receptor in the formation of germinal centers. *Science*, **271**(5253):1289-1291.
- MATSUO, K., IRIE, N. (2008). Osteoclast–osteoblast communication. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **473**: 201–209.
- MCCARTNEY, C. R., GINGRICH, M. B., HU, Y., EVANS, W. S., MARSHALL, J. C. (2002). Hypothalamic regulation of cyclic ovulation: evidence that the increase in gonadotropin-releasing hormone pulse frequency during the follicular phase reflects the gradual loss of the restraining effects of progesterone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **87**: 2194–2200.
- MCCOWEN, K.C., MAYKEL, J.A., BISTRAN, B.R., LING, P.R. (2002). Circulating ghrelin concentrations are lowered by intravenous glucose or hyperinsulinemic euglycemic conditions in rodents. *J. Endocrinol.*, **175**(2): R7-11.
- MEALEY, B. L., MORITZ, A. J. (2003). Hormonal influences: Effects of diabetes mellitus and endogenous female sex steroid hormones on the periodontium. *Periodontology 2000*, **32**: 59-81.
- MENGEL, R., BACHER, M., FLORES-DE-JACOBY, L. (2002). Interactions between stress, interleukin-1 β , interleukin-6 and cortisol in periodontally diseased patients. *J. Clin. Periodontol.*, **29**(11): 1012-1022.
- MOGI, M., OTOGOTO, J., OTA, N., INAGAKI, H., MINAMI, M., KOJIMA, K. (1999). Interleukin 1 β , interleukin 6, β 2-microglobulin, and transforming growth factor α in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Arch. Oral Biol.*, **44**(6):535-539.
- MOGI, M., OTOGOTO, J., OTA, N., TOGARI, A. (2004). Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J. Dent. Res.*, **83**:166–69.
- MOHAMMAD, A.R., HOOPER, D.A., VERMILYEA, S.G., MARIOTTI, A., PRESHAW, P.M. (2003). An investigation of the relationship between systemic bone density and clinical periodontal status in post-menopausal Asian-American women. *Int. Dent. J.*, **53**(3):121-125.
- MOORE W. E., MOORE L.V.(1994). The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol. 2000*, **5** :66.
- MOSS, D.W. (1987). Diagnostic aspects of alkaline phosphatase and its isoenzymes. *Clin. Biochem.*, **20**:225-230.
- MUNOZ, C., CARLET, J., FITTING, C. (1991). Dysregulation of in vitro cytokine production by monocytes during sepsis. *The Journal of Clinical Investigation*, **88**: 1747-1754.
- MURDOLO, G., LUCIDI, P., DI LORETO, C., PARLANTI, N., DE CICCIO, A., FANELLI, C., PERRIELLO, G., MUGHETTI, D., PIPPI, R., BROZZETTI, A., SANTEUSANIO, F., DE FEO, P. (2003). Circulating ghrelin levels of visceral obese men are not modified by a short-term treatment with very low doses of GH replacement. *J. Endocrinol. Invest.*, **26**:244–249.
- MUSCARITOLI, M., MOLFINO, A., CHIAPPINI, M.G., LAVIANO, A., AMMANN, T., SPINSANTI, P., MELCHIORRI, D., INUI, A., ALEGIANI, F., FANELLI, F.R. (2007). Anorexia in hemodialysis patients: the possible role of des-acyl ghrelin. *Am. J. Nephrol.*, **27**:360-365.

- NAGAYA, N., MIYATAKE, K., UEMATSU, M. (2001). Hemodynamic, renal nad hormanl effects of ghrelin infusion in patients with chronic heart failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**:5854-5859.
- NAKAGAWA, E., NAGAYA, N., OKUMURA, H., ENOMOTO, M., OYA, H., ONO, F., HOSODA, H., KOJIMA, M., KANGAWA, K. (2002). Hyperglycaemia suppresses the secretion of ghrelin, a novel growth- hormonereleasing peptide: responses to the intravenous and oral administration of glucose. *Clin. Sci. (Lond.)*, **103**:325–328.
- NAKAZATO, M., NMURAKAMI, N., DATE, Y., KOJIMA, M., MATSUO, H., KANGAWA, K., MATSUKURA, S. (2001). A role for ghrelin in the central regulation of feding. *Nature*, **409**:194–198.
- NEARY, N.M., GOLDSTONE, A.P., BLOOM, S.R. (2004). Appetite regulation: from the gut to the hypothalamus. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, **60**(2): 153-160.
- NISHI, Y., HIEJIMA, H., HOSODA, H., KAIYA, H., MORI, K., FUKUE, Y. (2005). Ingested mediumchain fatty acids are directly utilized for the acyl modification of ghrelin. *Endocrinology*, **146**(5): 2255-2264.
- OBAL JR., F., ALT, J., TAISHI, P., GARDI, J., KRUEGER, J.M. (2003). Sleep in mice with nonfunctional growth hormone-releasing hormone receptors. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **284**:R131–R139.
- OJANOTKO-HARRI, A.O., HARRI, M.P., HURTTIA, H.M., SEWON, L.A. (1991). Altered tissue metabolism of progesterone in pregnancy gingivitis and granuloma. *J. Clin. Periodontol.*, **18**: 262-266.
- OPAL, S.M., DEPALO, V.A. (2000). Anti-inflammatory cytokines. *Chest.*, **117**(4): 1162-1172.
- OPPENHEIM, J.J., RUSCETTI, F.W., FALTYNEK, C. Cytokines. D.P. Stites, AJ Terr (Ed.). *Basic and Clinical Immunology* (s. 105-123).
- ORIO, F. JR, LUCIDI, P., PALOMBA, S. (2003). Circulating ghrelin concentrations in the polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**:942-945.
- OROZCO, A., GEMMELL, E., BICKEL, M., SEYMOUR, G.J. (2006). Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.*, **21**(4): 256-260.
- OTERO, M., NOGUEIRAS, R., LAGO, F., DIEGUEZ, C., GOMEZ-REINO, J.J., GUALILLO, O. (2004). Chronic inflammation modulates ghrelin levels in humans nad rats. *Rheumatology (Oxf)*, **43**:306-310.
- OTT, V., FASSHAUER, M., DALSKI, A., MEIER, B., PERWITZ, B., KLEIN, H.H., TSCHOP, M., KLEIN, J. (2002). Direct peripheral effects of ghrelin include suppression of adiponectin expression. *Horm. Metab. Res.*, **34**: 640–645.
- OTTO, B., CUNTZ, U., FRUEHAUF, E., WAWARTA, R., FOLWACZNY, C., RIEPL, R.L., HEIMAN, M.L., LEHNERT, P., FICHTER, M., TSCHOP, M. (2001). Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur. J. Endocrinol.*, **145**:669–673.
- PACK, A.R.C., THOMSON, M.E. (1980). Effects of topical and systemic folic acid supplementation on gingivitis in pregnancy. *J. Clin. Periodontol.*, **7**: 402–414.
- PAGE RC, KORNMAN KS. The pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* 1997; **14**: 1-248.

- PAGE, R.C, SCHROEDER, H.E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.*, **34**(3): 235-249.
- PAGOTTO, U., GAMBINERI, A., PELUSI, C., GENGHINI, S., CACCIARI, M., OTTO, B., CASTANEDA, T., TSCHOP, M., PASQUALI, R. (2003). Testosterone replacement therapy restores normal ghrelin in hypogonadal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**:4139–4143.
- PARFITT, A.M. (1982). The coupling of bone formation to bone resorption: a critical analysis of the concept and of its relevance to the pathogenesis of osteoporosis. *Metab. Bone Dis. Re1. Res.*, **4**: 1-6.
- PARFITT, A.M.(1983). The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data. In: Recker RR, ed. Bone histomorphometry, techniques and interpretation. Boca Raton, FL CRC Press, 143-223.
- PEMBERTON, C., WIMALASENA, P., YANDLE, T., SOULE, S., RICHARDS, M. (2003). C-terminal pro-ghrelin peptides are present in the human circulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **310**:567–573.
- PENALVA, A., BALDELLI, R., CAMINA, J.P. (2001). Physiology and possible pathology of growth hormone secretagogues. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, **14**:1207-1212.
- PERACCHI, M., CONTE, D., TERRANI, C. (2003). Circulating ghrelin levels in celiac patients. *Am. J. Gastroenterol.*, **98**:2474-2478.
- PEROZINI, C., CHIBEBE, P.C., LEO, M.V., QUEIROZ CDA, S., PALLOS, D. (2010). Gingival crevicular fluid biochemical markers in periodontal disease: a cross-sectional study. *Quintessence Int.*, **41**: 877-883.
- PETERSENN, S. (2002). Structure and regulation of growth hormone secretagogue receptor. *Minerva End.*, **27**:243-256.
- PETTERSSON, I., MUCCIOLI, G., GRANATA, R., DEGHENGI, R., GHIGO, E., OHLSSON, C., ISGAARD, J. (2002). Natural (ghrelin) and synthetic (hexarelin) GH secretagogues stimulate H9c2 cardiomyocyte cell proliferation. *J. Endocrinol.*, **175**:201–209.
- PFEILSCHIFTER, J., MUNDY, G.R. (1987). Modulation of type β transforming growth factor activity in bone cultures by osteotropic hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **84**:2024-2028.
- POYKKO, S.M., KELLOKOSKI, E., HORKKO, S., KAUMA, H., KESANIEMI, Y.A. UKKOLA, O. (2003). Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes*, **52**:2546-2553.
- PREISS, D.S., MEYLE, J. (1994). Interleukin-1 beta concentration of gingival crevicular fluid. *Journal of Periodontology*, **65**: 423-428.
- PRICE, C.P., THOMPSON, P.W. (1995). The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis. *Ann. Clin. Biochem.* **32**: 1–17.
- PURNELL, J.Q., WEIGLE, D.S., BREEN, P., CUMMINGS, D.E. (2003). Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**(12): 5747-5752.
- RABER-DURLACHER, J.E., LEENE, W., PALMER-BOUVA, C.C.R. (1993). Experimental gingivitis during pregnancy and post partum: immunohistochemical aspects. *J. Periodontol.*, **64**: 211-218.

- RAVUSSIN, E., TSCHOP, M., MORALES, S., BOUCHARD, C., HEIMAN, M.L. (2001). Plasma ghrelin concentration and energy balance: overfeeding and negative energy balance studies in twins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**:4547.
- RAWLINSON, A., DALATI, M.H., RAHMAN, S., WALSH, T.F., FAIRCLOUGH, A.L. (2000). Interleukin- 1 and IL-1 receptor antagonist in gingival crevicular fluid. *Journal of Clinical Periodontology*, **27**: 738-743.
- REINHARDT, R.A., MASADA, M.P., JOHNSON, G.K., DU BOIS, L.M., SEYMOUR, G.J., ALLISON, A.C. (1993). IL-1 in gingival crevicular fluid following closed root planing and papillary flap debridement. *Journal of Clinical Periodontology*, **20**: 514-519
- REINHARDT, R.A., PAYNE, J.B., MAZE, C.A., PATIL, K.D., GALLAGHER, S.J., MATTSON, J.S. (1999). Influence of estrogen and osteopenia/osteoporosis on clinical periodontitis in postmenopausal women. *J. Periodontol.*, **70**:823-828.
- RICHMAN, M.J., ABARBANEL, A.R. (1943). Effect of estradiol and diethylstilbesterol upon the atropic human buccal mucosa with a preliminary case report on the use of estrogens in the managment of senile gingivitis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **3**: 224-226.
- RIIS, A.L., HANSEN, T.K., MOLLER, N., WEEKW, J., JORGENSEN, J.O. (2003). Hyper thyroidism is associated with suppressed circulating ghrelin levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**:853-857.
- ROSSOMANDO, E.F., KENNEDY, J.E., HADJIMICHAEL, J. (1990). Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Archives of Oral Biology*, **35**: 431-434.
- SAAD, M.F., BERNABA, B., HWU, C.M., JINAGOUDA, S., FAHMI, S., KOGOSOV, E. (2002). Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**(8): 3997-4000.
- SAKATA, I., NAKAMURA, K., YAMAZAKI, M., MATSUBARA, M., HAYASHI, Y., KANGAWA, K., SAKAI, T. (2002). Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed-and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides*, **23**: 531-536.
- SANCHEZ DE MEDINA, F., MARTINEZ-AUGUSTIN, O., GONZALEZ, R. (2004). Induction of alkaline phosphatase in the inflamed intestine: a novel pharmacological target for inflammatory bowel disease. *Biochem. Pharmacol.*, **68**:2317-2326.
- SATO, M., NAKAHARA, K., GOTO, S., KAIYA, H., MIYAZATO, M., DATE, Y. (2006). Effects of ghrelin and des-acyl ghrelin on neurogenesis of the rat fetal spinal cord. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **350**(3): 598-603.
- SCHALLER, G., SCHMIDT, A., PLEINER, J., WOLOSZCZUK, W., WOLZT, M., LUGER, A. (2003). Plasma ghrelin concentrations are not regulated by glucose or insulin: a double-blind, placebo-controlled crossover clamp study. *Diabetes*, **52**:16-20.
- SCHENKEIN, H.A. (2006). Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontol 2000*, **40**: 77-93.
- SCHIELE, F., HENNY, J., HITZ, J. (1983). Total bone and liver alkaline phosphatases in plasma: biological variations and reference limits. *Clin. Chem.*, **29**: 634-41.
- SCHOFL, C., HORN, R., SCHILL, T., SCHLOSSER, H.W., MULLER, M.J., BRABANT, G. (2002). Circulating ghrelin levels in patients with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**:4607-4610.

- SCHROEDER, H.E. (1996). The junctional epithelium: origin, structure, and significance. A review. *Acta. Med. Dent. Helv.*, **1**:155-167.
- SCHROEDER, H.E., LISTGARTEN, M.A. (1997). The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol. 2000*, **13**:91-120.
- SCHWARTZ, M.W., WOODS, S.C., PORTE, D. JR, SEELEY, R.J., BASKIN, D.G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, **404**:661-671.
- SCHWARTZ, Z., GOULTSCHIN, J., DEAN, D.D., BOYAN, B.D. (1997). Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontology 2000*, **14**: 158-172.
- SEYMOUR, G., GEMMELL, E. (2001). Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontologica Scandinavica*, **59**: 167-173.
- SHAPIRA, L., SASKOLNE, W.A., SELA, M.N., OFFENBACHER, S., BARAK, V. (1994) The secretion of PGE₂, IL-1 beta, TNF-alfa by adherent mononuclear cells from early onset periodontitis patients. *Journal of Periodontology*, **65**: 139-146.
- SHIAU, H.J., AICHELMANN-REIDY, M.E., REYNOLDS, M.A. (2014). Influence of sex steroids on inflammation and bone metabolism. *Periodontology 2000*, **64**:81-94.
- SHIYA, T., NAKAZATO, M., MIZUTA, M., DATE, Y., MONDAL, M.S., TANAKA, M. (2002). Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**(1): 240-244.
- SHIMIZU, Y., NAGAYA, N., TERANISHI, Y., IMAZU, M., YAMAMOTO, H., SHOKAWA, T. (2003). Ghrelin improves endothelial dysfunction through growth hormone-independent mechanisms in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **310**: 830-835.
- SHINOMIYA, T., FUKUNAGA, M., AKAMIZU, T., IRAKO, T., YOKODE, M., KANGAWA, K., NAKAI, Y., NAKAI, Y. (2005). Plasma acylated ghrelin levels correlate with subjective symptoms of functional dyspepsia in female patients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, **40**:648-653.
- SHIOTANI, A., MIYANISHI, T., UEDO, N., IISHI, H. (2005). *Helicobacter pylori* infection is associated with reduced ghrelin levels independent of body mass index. *Helicobacter*, **10**:373-378.
- SMITH, M., SEYMOUR, G.J., CULLINAN, M.P. (2010). Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol. 2000*, **53**: 45-54.
- SMITH, R.G., JIANG, H., SUN, Y. (2005). Developments in ghrelin biology and potential clinical relevance. *Trends Endocrinol. Metab.*, **16**(9): 436-442.
- SMITH, R.G., VAN DER PLOEG, L.H., HOWARD, A.D., FEIGHNER, S.D., CHENG, K., HICKEY, G.J., (1997). Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr. Rev.*, **18**:621-645.
- SOORIYAMOORTHY, M., GOWER, D.B. (1989) Hormonal influences on gingival tissue: Relationship to periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, **16**:201-208.
- SOWERS, M.R., WILDMAN, R.P., MANCUSO, P., EYVAZZADEH, A.D., KARVONEN-GUTIERREZ, C.A., RILLAMAS-SUN, E. (2008). Change in adipocytokines and ghrelin with menopause. *Maturitas*, **59**(2): 149-157.

- ST. PIERRE, D.H., KARELIS, A.D., CODERRE, L., MALITA, F., FONTAINE, J., MIGNAULT, D., BROCHU, M., BASTARD, J., CIANFLONE, K., DOUCET, E., IMBEAULT, P., RABASA-LHORET, R. (2007). Association of acylated and nonacylated ghrelin with insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol.*, **92**:264-269.
- STABHOLZ, A., SOSKOLNE, W.A., SHAPIRA, L. (2010). Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol. 2000*, **53**: 138-153.
- STASHENKO, P., FUJIYOSHI, P., OBERNESSER, M.S., PROSTAK, L., HAFFAJEE, A.D., SOCRANSKY, S.S. (1991). Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, **18**: 548-554.
- SUEMATSU, M., KATSUKI, A., SUMIDA, Y., GABAZZA, E.C., MURASHIMA, S., MATSUMOTO, K. (2005). Decreased circulating levels of active ghrelin are associated with increased oxidative stress in obese subjects. *Eur. J. Endocrinol.*, **153**(3): 403-407.
- SWAMINATHAN, R. (2001). Biochemical markers of bone turnover. *Clinica Chimica Acta*, **313**: 95-105.
- TAANI D.Q., HABASHNEH R., HAMMAD M.M., BATIEHA A. (2003). The periodontal status of pregnant women and its relationship with socio-demographic and clinical variables. *Journal of Oral Rehabilitation*, **30**: 440-445.
- TACKE, F., BRABANT, G., KRUCK, E. (2003). Ghrelin in chronic liver disease. *J. Hepatol.*, **38**:447-454.
- TAKAYA, K., ARIYASU, H., KANAMOTO, N., IWAKURA, H., YOSHIMOTO, A., HARADA, M. (2000). Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **85**(12): 4908-4911.
- TANG, T.H., FITZSIMMONS, T.R., BARTOLD, P.M. (2009). Effect of smoking on concentrations of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand and osteoprotegerin in human gingival crevicular fluid. *J. Clin. Periodontol.*, **36**:713-718.
- TATAKIS, D.N., KUMAR, P.S. (2005). Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dent. Clin. North Am.* **49**(3): 491-516.
- TAUB, D.D. (2007). Novel connections between the neuroendocrine and immune system: the ghrelin immunoregulatory network. *Vitam. Horm.*, **77**:325-346.
- TAUB, D.D., MURPHY, W.J., LONGO, D.L. (2010). Rejuvenation of the aging thymus: growth hormone-mediated and ghrelin-mediated signaling pathways. *Curr. Opin. Pharmacol.*, **10**:408-424.
- TAYLOR, J.J. (2010). Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000*, **54**(1): 160-194.
- THOMPSON, N.M., GILL, D.A., DAVIES, R., LOVERIDGE, N., HOUSTON, P.A., ROBINSON, I.C. (2004). Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly in vivo by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology*, **145**(1): 234-242.
- TOBIUME, H., KANZAKI, S., HIDA, S., ONO, T., MORIWAKE, T., YAMAUCHI, S., TANAKA, H., SEINO, Y. (1997). Serum bone alkaline phosphatase isoenzyme levels in normal children and children with growth hormone deficiency: a potential marker for bone formation and response to GH therapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **82**:2056-2061.

- TORSELLO, A., SCIBONA, B., LEO, G., BRESCIANI, E., AVALLONE, R., BULGARELLI, I., LUONI, M., ZOLI, M., RINDI, G., COCCHI, D., LOCATELLI, V. (2003). Ontogeny and tissue-specific regulation of ghrelin mRNA expression suggest that ghrelin is primarily involved in the control of extraendocrine functions in the rat. *Neuroendocrinology*, **77**:91–99.
- TOUSSIROT, E., STREIT, G., NGUYEN, N.U., DUMOULIN, G., LE HUEDE, G., SAAS, P. (2007). Adipose tissue, serum adipokines, and ghrelin in patients with ankylosing spondylitis. *Metabolism*, **56**(10): 1383-1389.
- TRAN VAN, P., VIGNERY, A., BARON, R. (1982). An electron-microscopic study of the bone-remodeling sequence in the rat. *Cell Tissue Res.*, **225**:283-292.
- TRITOS, N.A., KOKKINOS, A., LAMPADARIOU, E., ALEXIOU, E., KATSIAMBROS, N., MARATOS-FLIER E. (2003). Cerebrospinal fluid ghrelin is negatively associated with body mass index. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**:2943–2946.
- TROMBONE, A.P., FERREIRA, S.B. JR., RAIMUNDO, F.M., DE MOURA, K.C., AVILA-CAMPOS, M.J., SILVA, J.S. (2009). Experimental periodontitis in mice selected for maximal or minimal inflammatory reactions: increased inflammatory immune responsiveness drives increased alveolar bone loss without enhancing the control of periodontal infection. *J. Periodontal. Res.*, **44**:443-451.
- TSCHOP, M., SMILEY, D.L., HEIMAN, M.L. (2000). Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, **407**:908–913.
- TSCHOP, M., WEYER, C., TATARANNI, P.A., DEVANARAYAN, V., RAVUSSIN, E., HEIMAN, M.L. (2001). Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*, **50**:707–709.
- TSOLAKIS, A.V., PORTELA-GOMES, G.M., STRIDSBERG, M. (2004). Malignant gastric ghrelinoma with hyperghrelinemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **89**:3739-3744.
- TVARIJONAVICIUTE, A., MARTINEZ-SUBIELA, S., CERON, J.J. (2014). Influence of different storage conditions and anticoagulants on the measurement of total and acylated ghrelin in dogs: a preliminary study.
- UKKOLA, O. (2004). Peripheral regulation of food intake: new insights. *J. Endocrinol. Invest.* **27**:96-98.
- UKOKI, O., RAVUSSIN, E., JACOHSON, P., SNYDER, E.E., CHAGNON, M. (2001). Mutations in the preproghrelin, ghrelin gene associated with obesity in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**:3996-3999.
- UNSAL, B., SAYGUN, I., DALTABAN, O., BAL, B., BOLU, E. (2008). The relationship between periodontal status and alkaline phosphatase levels in gingival crevicular fluid in men with hypergonadotropic hypogonadism. *Yonsei. Med. J.*, **49**(1): 71-78.
- VAN BEZOOIJEN, R.L., ROELEN, B.A., VISSER, A., VAN DER WEE-PALS, L., DE WILT, E., KARPERIEN, M., HAMERSMA, H., PAPAPOULOS, S.E., TEN DIJKE, P., LOWIK, C.W. (2004). Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist. *J. Exp. Med.*, **199**:805-814.
- VAN DER LELY, A.J., TSCHOP, M., HEIMAN, M.L., GHIGO, E. (2004). Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr. Rev.*, **25**(3): 426-457.

- VARDAR-SENGUL, S., BUDUNELI, N., BUDUNELI, E., KARDESLER, L., BAYLAS, H., ATILLA, G. (2006). Dietary supplementation of omega-3 fatty acid and circulating levels of interleukin-1beta, osteocalcin, and C-reactive protein in rats. *J. Periodontol.*, **77**: 814-820.
- VETTOR, R., FABRIS, R., PAGANO, C., FEDERSPIL, G. (2002). Neuroendocrine regulation of eating behavior. *J. Endocrinol. Invest.*, **25**:836-854.
- VIGNERY, A., BARON, R. (1980). Dynamic histomorphometry of alveolar bone remodeling in the adult rat. *Anat. Rec.*, **202**:445-451.
- VILA, G., MAIER, C., RIEDL, M., NOWOTNY, P., LUDVIK, B., LUGER, A. (2007). Bacterial endotoxin induces biphasic changes in plasma ghrelin in healthy humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **92**(10): 3930-3934.
- VON WOWER, N., WESTERGAARD, J., KOLLERUP, G. (2001). Bone mineral content and bone metabolism in young adults with severe periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, **28**: 583-588.
- WADA, T., NAKASHIMA, T., HIROSHI, N., PENNINGER, J.M. (2006). RANKLRANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol. Med.*, **12**: 17-25.
- WARA-ASWAPATI, N., SURARIT, R., CHAYASADOM, A., BOCH, J.A., PITIPHAT, W. (2007). RANKL upregulation associated with periodontitis and Porphyromonas gingivalis. *J. Periodontol.*, **78**(6):1062-69.
- WASKO, R., KOMAROWSKA, H., WARENIK-SZYMANKIEWICZ, A., SOWINSKI, J. (2004). Elevated ghrelin plasma levels in patients with polycystic ovary syndrome. *Horm. Metab. Res.*, **36**:170-173.
- WATTS, N.B. (1999). Clinical utility of biochemical markers of bone remodelling. *Clin. Chem.*, **45**: 1359-1368.
- WEIGLE, D.S., CUMMINGS, D.E., NEWBY, P.D., BREEN, P.A., FRAYO, R.S., MATTHYS, C.C. (2003). Roles of leptin and ghrelin in the loss of body weight caused by a low fat, high carbohydrate diet. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**(4): 1577-1586.
- WEIKEL, J.C., WICHNIAK, A., M. ISING, BRUNNER, H., FRIESS, E., HELD, K., MATHIAS, S., SCHMID, D.A., UHR, M., STEIGER, A. (2002). Ghrelin promotes slow-wave sleep in man. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **284**:E407-E415.
- WONG, B.R., RHO, J., ARRON, J., ROBINSON, E., ORLINICK, J., CHAO, M., KALACHIKOV, S., CAYANI, E., BARTLETT, 3RD. F.S., FRANKEL, W.N., LEE, S.Y., CHO, Y. (1997). TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-jun Nterminal kinase in T cells. *J. Biol. Chem.* **272**: 25190-25194.
- WOZNEY, J.M., ROSEN, V., CELESTE, A.J., MITSOCK, L.M., WHITTERS, M.J., KRIZ, R.W., HEWICK, R.M., WANG, E.A. (1988). Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, **242**:1528-1534.
- WREN, A.M., SMALL, C.J., ABBOTT, C.R., DHILLO, W.S., SEAL, L., COHEN, M.A., BATTERHAM, R.L., TAHERI, S., STANLEY, S.A., GHATEI, M.A., BLOOM, S.R. (2001). Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes*, **50**:2540-2547.
- WYNNE, K., STANLEY, S., BLOOM, S. (2004). The gut and regulation of body weight. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **89**:2576-2582.
- XU, G., LI, Y., AN, W., ZHANG, W. (2008). Ghrelin and cell differentiation. *Acta. Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*, **40**(10): 841-847.

- YANO, K., TSUDA, E., WASHIDA, N., KOBAYASHI, F., GOTO, M. (1999). Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.*, **14**:518-527.
- YILMAZ, G., KIRZIOGLU, F.Y., DOGUC, D.K., KOCAK, H., ORHAN, H. (2014). Ghrelin levels in chronic periodontitis patients. *Odontology*, **102**:59-67.
- YOSHIDA, H., HAYASHI, S., KUNISADA, T., OGAWA, M., NISHIKAWA, S., OKAMURA, H., SUDO, T., SHULTZ, L.D. (1990). The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene. *Nature*, **345**:442-444.
- YOSHIHARA, A., SEIDA, Y., HANADA, N., MIYAZAKI, H. (2004). A longitudinal study of the relationship between periodontal disease and bone mineral density in community-dwelling older adults. *J. Clin. Periodontol.* **31**(8):680-684.
- ZHANG, W., ZHAO, L., LIN, T.R., CHAI, B., FAN, Y., GANTZ, I. (2004). Inhibition of adipogenesis by ghrelin. *Mol. Biol. Cell*, **15**(5): 2484-2491.
- ZHAO, D., ZHAN, Y., ZENG, H., MOYER, M.P., MANTZOROS, C.S., POTHOUKAKIS, C. (2006). Ghrelin stimulates interleukin-8 gene expression through protein kinase C-mediated NFkappaB pathway in human colonic epithelial cells. *J. Cell Biochem.*, **97**:1317-1327.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 44-6866
KONU :

02.10.2012

Sayın

Doç.Dr. Gülден EREŞ
Ankara Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

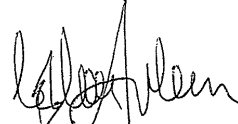
Araştırmacı grubu Gülден EREŞ, Ceren Su AKGUN, Fatma BÖKE ve Ayça Dilara YILMAZ'dan oluşan, G.Ü.ET-12.028 kod numaralı ve **"Periodontal Hastalıkta Ghrelin Seviyeleri"** başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-12.028 and entitled **"Ghrelin Levels in Periodontal Disease"** is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Ceren Su Akgün

Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara, 15.10.1987

Uyruğu : T.C.

Medeni Durumu : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

İletişim Adresi : A. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D.
Çankaya/ANKARA

Telefon : Ev: 0312 344 60 86
İş: 0312 296 56 90
Cep: 0532 736 74 16

Elektronik Posta : cerensuakgun@hotmail.com

II- Eğitim Bilgileri

Doktora:

2010- A. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D, Ankara

Lisans:

2005-2010 A.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi, Ankara

Orta öğretim

2001-2005 Milli Piyango Anadolu Lisesi

1998-2001 Yasemin Karakaya İlköğretim Okulu

İlk Öğretim

1993-1998 Abdi İpekçi İlköğretim Okulu

III- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Periodontoloji Derneği

IV- Bilimsel Etkinlikler

Sempozyum ve Kongreler

- 1- 16 th Congress of the BaSS, 28 Nisan-1 Mayıs 2011, Bükreş, Romanya
- 2- Türk Periodontoloji Derneği 41. Bilimsel Kongresi, 20-22 Mayıs 2011, İstanbul, Türkiye
- 3- Astra Tech 3th Scientific Symposium, 25-26 Kasım 2011, Antalya, Türkiye
- 4- Europerio 7, 6-9 Haziran 2012, Viyana, Avusturya
- 5- Türk Periodontoloji Derneği 42. Bilimsel Kongresi, 8-10 Kasım 2012, Ankara, Türkiye
- 6- PİEG 5. Uluslararası Oral İmplantolojide İleri Protokoller Sempozyumu, 20-23 Nisan 2013, Antalya, Ankara
- 7- 18 th Congress of BaSS, 25-28 Nisan 2013, Üsküp, Makedonya
- 8- İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 6. Uluslararası Bilimsel Kongresi, Kasım 2013, İstanbul, Türkiye
- 9- Türk Periodontoloji Derneği 44. Bilimsel Kongresi, Mayıs 2014, İstanbul, Türkiye

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler

- 1- TREATMENT OF LOCALIZED GINGIVAL RECESSON USING GINGIVAL UNIT GRAFT: A CASE REPORT (Poster) (18 th Congress of BaSS, 25-28 Nisan 2013, Üsküp, Makedonya).
- 2- Changes In The Use of Oral Hygiene Products and Oral Hygiene Practices In A Decade (Poster) (İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 6. Uluslararası Bilimsel Kongresi, Kasım 2013, İstanbul, Türkiye).

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler

- 1- Periferik Ossifiye Fibrom: Bir Olgu Sunumu (Poster) (Türk Periodontoloji Derneği 42. Bilimsel Kongresi, 8-10 Kasım 2012, Ankara, Türkiye)

1- Piyojenik Granülom: Bir Olgu Sunumu (Poster) (Türk Periodontoloji Derneği 44. Bilimsel Kongresi, Mayıs 2014, İstanbul, Türkiye

Yayınlar

1- Periferik Ossifiye Fibrom: Bir Olgu Sunumu. Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi (2012); 39(1):27-30