



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**



**PERİODONTİTİSLİ BİREYLERİN TÜKÜRÜK VE
SERUM ÖRNEKLERİNDE 8-OHDG VE MMP-8
SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Cavid MAMMADOV

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Şivge KURGAN**

**ANKARA
2021**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**PERİODONTİTİSLİ BİREYLERİN TÜKÜRÜK VE
SERUM ÖRNEKLERİNDE 8-OHDG VE MMP-8
SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Cavid MAMMADOV

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Şivge KURGAN**

**ANKARA
2021**

Ankara Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı'na,

Uzmanlık tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Periodontitisli Bireylerin Tükürük ve Serum Örneklerinde 8-OHdG ve MMP-8 Seviyelerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez çalışması; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan klinik çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Cavid MAMMADOV

Tarih :

İmza :

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Periodontoloji Anabilim Dalı'nda

Cavid Mammadov tarafından hazırlanan

“Periodontitisli Bireylerin Tükürük ve Serum Örneklerinde 8-OHdG ve MMP-8 Seviyelerinin Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından UZMANLIK TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza

Doç. Dr. Şivge KURGAN

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. ...

Üniversitesi

Raportör

imza

Prof. Dr.

Üniversitesi

üye

İmza

Prof. Dr. ...

Üniversitesi

Üye

imza

Prof. Dr.

Üniversitesi

üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Kaan Orhan

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	ix
Çizelgeler	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Kronik Periodontitis	1
1.1.1. Kronik Periodontitisin Klinik Özellikleri	2
1.1.2. Hastalık Dağılımı	2
1.1.3. Hastalık Şiddeti	3
1.1.4. Semptomlar	3
1.1.5. Hastalık İlerleyişi	4
1.1.6. Prevelans	5
1.2. Agresif Periodontitis	5
1.2.1. Genel Özellikler	6
1.2.2. Hastalığın dağılımı	7
1.2.2.1. Generalize Agresif Periodontitis (GAP)	7
1.2.2.2. Lokalize agresif periodontitis (LAP)	8
1.2.3. Periodonsiyumun Enflamatuvar Yanıtı	8
1.2.4. Mikrobiyal Virülans Faktörler	8
1.2.4.1. Lipopolisakkaritler	9
1.2.4.2. Bakteriyel Enzimler ve Zararlı Ürünler	9
1.2.4.3. Mikrobiyal İnvazyon	10
1.2.4.4. Fimbria	10
1.2.5. Konaktan Salınan Enflamatuvar Mediatorler	11
1.2.5.1. Sitokinler	11
1.2.5.2. Prostaglandinler (PG)	12
1.2.5.3. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)	13
1.2.5.3.1. MMP-8'in Teşhisteki Rolü	16
1.2.5.3.2. Periodontitisin Teşhis Belirteci Olarak Tükürük MMP Değerleri	17
1.3. Oksidatif Stres	18
1.3.1. Terminoloji	18
1.3.1.1. Serbest Radikaller	18
1.3.1.2. Antioksidanlar	18
1.3.1.3. Oksidatif Stres	19
1.3.1.4. Redoks Potansiyeli	19
1.3.1.5. Serbest Radikallerin Etkileri	19
1.3.1.5.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi	20
1.3.1.5.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	21
1.3.1.5.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri	21
1.3.1.5.4.8. Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)	21

2. MATERİYAL VE METOT	23
2.1. Periodontal Durumun Değerlendirilmesi	25
2.2. Tükürük ve Serum Örneklerinin Toplanması	25
2.3. Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi	25
2.4. İstatistiksel Analizler	26
3. BULGULAR	28
3.1. Çalışma Popülasyonu	28
3.2. Biyokimyasal Parametreler	29
3.3. Biyokimyasal ve Klinik Periodontal Parametreler Arasındaki Korelasyonlar	29
3.4. ROC Analizi	30
4. TARTIŞMA	34
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
ÖZET	42
SUMMARY	43
KAYNAKLAR	44
EKLER	56
EK-1. Etik Kurul Onayı	56
ÖZGEÇMİŞ	57

ÖNSÖZ

Bu klinik çalışmada, periodontal durumun tespitinde kullanılabilecek etkin biyobelirteçler olabileceği düşünülen tükürük 8-OHdG ve MMP-8 değerlerinin periodontitis hastaları ve periodontal olarak sağlıklı bireylerde seviyeleri belirlenmiş ve hastalık belirteçleri olarak kullanımlarındaki değerliliği saptanmıştır. Çalışmamızın sonuçları ve literatür incelendiğinde MMP-8 ve 8-OHdG'nin periodontal hastalığın seyri ve teşhisinde önemli biyobelirteçler olabileceği, özellikle büyük çaplı saha çalışmalarında kullanımlarının oldukça avantajlı olabileceği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızın sonuçları göstermektedir ki özellikle MMP-8 ve 8-OHdG'nin kombine kullanımı teşhisin doğruluğunu oldukça arttırmaktadır. Bu sonuçlar periodontitisin invaziv olmayan taraması için yeni umutlar sunmaktadır.

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca büyük emeği geçen, akademisyen olarak bilgisi ve tecrübesiyle bana daima her konuda yol gösteren, bana duyduğu güveni her daim hissettiğim, değerli hocam Doç. Dr. Şivge Kurgan'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince sahip olduğu deneyimi ve bilgi birikimini benle paylaşan değerli hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. M. Murat AKKAYA'ya,

Üzerimde emekleri olan Ankara Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nın kıymetli hocaları Prof. Dr. Meral GÜNHAN, Prof. Dr. Elif ÜNSAL, Prof. Dr. Adnan TEZEL, Doç. Dr. Canan ÖNDER, Doç. Dr. Nilsun BAĞIŞ, Doç. Dr. Fatma KARACAOĞLU'na,

Hiçbir yardımını esirgemeyen bölümümüzün personelleri Hüseyin ÇAĞLAR ve Ali SAYAN'a,

Hayatım boyunca bana hep destek olan, benden hiçbir şeyi esirgemeyen, her fedakarlığı gösteren ANNEME ve BABAMA, her zaman yanımda olan Eşıme teşekkür ediyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
A.a.	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
AgP	Agresif Periodontitis
AUC	Eğri altındaki alan
β	Beta
BOP	Sondalamada kanama
CD	Cep derinliği
COX	Siklooksijenaz
CR	Kompleman reseptörü
DOS	Dişeti oluğu sıvısı
F. nucleatum	Fusobacterium nucleatum
GAP	Generalize agresif periodontitis
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ S	Hidrojen sülfid
IL	İnterlökin
İgG	İmmünglobulin G
KAK	Klinik ataçman kaybı
L	Lipit serbest radikali
LAP	Lokale agresif periodontitis
LOO	Lipit peroksit radikali
LOOH	Lipit peroksitleri
LPS	Lipopolisakkarid
MAMP	Mikroorganizma ilişkili moleküler patern
MMP	Matriks metalloproteinaz
NF- κ B	Nükleer faktör κ B
NH ₃	Amonyak
NK	Naturel killer
O ₂	Süperoksit radikali
OH	Hidroksil radikali
OS	Oksidatif stres

P. gingivalis	Porphyromonas gingivalis
PgE2	Prostaglandin E2
RA	Romatoid artrit
ROT	Reaktif oksijen türleri
SKİ	Sondalamada kanama indeksi
SLE	Sistemik lupus eritematozus
TLR	Toll benzeri reseptör
TNF- α	Tümör nekrozis faktör-alfa



ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Örneklem büyüklüğünü belirlemek için tek yönlü varyans analizi	27
Şekil 3.1. Biyokimyasal parametrelerin gruplar arası karşılaştırması	29
Şekil 3.2. ROC eğrisi analizlerinin karşılaştırılması.....	31
Şekil 3.3. Tükürük MMP-8 ve 8-OHdG kombinasyonu için ROC analizi.....	32
Şekil 3.4. Tükürük MMP-8 ve 8-OHdG kombinasyonu için ROC analizi.....	33



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Kronik ve agresif periodontitisin ayırt edici özellikleri.....	6
Çizelge 1.2. Periodontal hastalıkla ilişkili MMP'lerin biyolojik aktiviteleri.....	14
Çizelge 3.1. Demografik, klinik periodontal ve biyokimyasal parametreler	28
Çizelge 3.2. Biyobelirteçler ve klinik periodontal parametreler arasındaki korelasyonlar	30
Çizelge 3.3. Çoklu lojistik regresyon analiz sonuçları	30
Çizelge 3.4. Kronik ve agresif periodontitiste tükürük ve serum 8-OhdG ve MMP-8 biyobelirteçlerinin tek tek ve kombine tanısal etkinliği	31



1. GİRİŞ

1.1. Kronik Periodontitis

Kronik periodontitis (önceki adıyla erişkin periodontitis/erişkin kronik periodontitis) en sık görülen periodontitis formudur. Çoğunlukla yavaş ilerleyen bir hastalık olmakla birlikte sistemik hastalıklar/durumlar, stres, sigara gibi konak cevabını modifiye eden sistemik ve çevresel faktörler sonucunda daha hızlı ve agresif seyredebilir. Kronik periodontitis yetişkinlerde daha sık görülür ancak plak ve kalkulusun kronik akümülyasyonuna yanıt olarak çocuklarda ve adolesanlarda da gözlenebilir. Bu durum; yalnızca erişkinlerde görülen, plakla başlayan ‘erişkin periodontitis’ isminin her yaşta görülebilen ve daha evrensel bir tanımlama olan ‘kronik periodontitis’ ile değiştirilmesini açıklamaktadır.

Kronik periodontitis; ‘Dişlerin destek dokularında enflamasyon ve ileri ataçman kaybıyla sonuçlanan enfeksiyöz bir hastalık’ olarak tanımlanmaktadır. Bu tanım hastalığın majör klinik bulguları ve etyolojik özelliklerine dikkat çekmektedir:

1. Mikrobiyal plak oluşumu
2. Periodontal enflamasyon
3. Ataçman ve alveoler kemik kaybı.

Periodontal cep oluşumu; dişeti çekilmesinin ataçman kaybına eşlik etmediği durumlarda, hastalık prosesinin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Süregelen ataçman ve kemik kaybı da beraberinde izlenir (Carranza’s Clinical Periodontology, s.:345).

1.1.1. Kronik Periodontitisin Klinik Özellikleri

1. Marjinal dişetindeki renk, doku ve hacimsel değişiklikler
2. Periodontal cepte sondalama sırasında kanama (BOP)
3. Yumuşak marjinal dokuların sondalamaya karşı direncinin azalması (artan cep derinliği veya periodontal cep oluşumu)
4. Ataçman kaybı
5. Dişeti çekilmesi
6. Alveoler kemik kaybı (horizontal veya vertikal model)
7. Kök fraksiyon bölgesinin açığa çıkması
8. Artan diş mobilitesi
9. Dişlerde patolojik migrasyon ve diş kaybı (Clinical Periodontology and Implant Dentistry, s.:381).

1.1.2. Hastalık Dağılımı

Kronik periodontitiste ataçman ve kemik kaybı; ağızdaki tüm dişlerde ve tek bir dişin tüm yüzeylerinde eşit olarak dağılmayabilir. Yıkımlar bölgeye özgü bir tablo sergiler. Lokal enflamasyon, cep oluşumu, ataçman ve kemik kaybı, subgingival plağa (dental biyofilm) ve lokal inflamatuvar cevaba doğrudan maruz kalmanın sonuçlarıdır. Bir dişin bir veya daha fazla bölgesinde periodontal cep oluşumu, ataçman ve kemik kaybı gelişirken, diğer bölgeler fizyolojik ataçman seviyesinde kalabilir. Klinik ataçman ve kemik kaybının bulunduğu diş sayısına bağlı olarak, kronik periodontitis aşağıdaki kategorilere ayrılabilir:

- Lokalize kronik periodontitis; ağızda %30'dan daha az bölgedeki ataçman ve kemik kaybı varlığı
- Generalize kronik periodontitis, ağızda %30'dan fazla bölgedeki ataçman ve kemik kaybı varlığı

Kronik periodontitiste lokal enflamatuar yanıt, vertikal ve horizontal kemik yıkımı dahil olmak üzere farklı kemik kaybı modelleri izlenebilir. Vertikal kemik kaybı kemik içi cep oluşumu, horizontal kemik kaybı ise genellikle kemik üstü cep oluşumu ile ilişkilidir.

1.1.3. Hastalık Şiddeti

Kronik periodontitiste periodontal destrüksiyonun şiddeti ve derecesi zamanla orantılı biçimde artmaktadır. Yıkımın şiddeti ve derecesi aynı zamanda konakçı immün yanıtı bozan veya arttıran sistemik bozuklukların varlığı ile de artmaktadır. Kronik periodontitisli hastalarda yaşla birlikte ataçman ve kemik kaybında bir ilerleme görülür. Tedavi edilmez ve oral hijyen alışkanlıkları değiştirilmezse diş kaybıyla sonuçlanabilir. Periodontitis sadece lokalize inflamatuvar bir hastalık değildir. Hem pro-inflamatuar sitokinlerin salınması, hem de periodontal bakterilerin ve bakteri bileşenlerinin sistemik dolaşıma geçmesi ile düşük düzeyde sistemik inflamasyona yol açar. Periodontitis, bu nedenle ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve romatoid artrit dahil olmak üzere, diğer kronik sistemik hastalıkları alevlendirebilir; bu yüzden önemli bir risk faktörüdür (Holmstrup ve ark., 2017).

Ataçman ve kemik kaybının derecesine göre, hastalığın şiddeti hafif, orta veya şiddetli olarak tanımlanabilir:

Hafif periodontitis: Klinik ataçman kaybı 1-2 mm'den daha az

İlımlı periodontitis: Klinik ataçman kaybı 3-4 mm

Şiddetli periodontitis: Klinik ataçman kaybı 5 mm veya daha fazla

1.1.4. Semptomlar

Kronik periodontitis genellikle ağrı olmaksızın yavaş ilerleyen bir hastalıktır. Bu nedenle çoğu hasta, kronik bir hastalık geliştiğinin farkında değildir. Hastaların çoğu

için, oral hijyen prosedürleri veya yemek yeme sırasındaki dişeti kanaması hastalığının ilk semptomu olabilir. Dişeti çekilmesinin bir sonucu olarak, hastalar soğuk ve sıcakta diş hassasiyeti ve dişler arasında siyah üçgenlerden şikayet ederler. İlaveten interdental bölgede gıda sıkışması meydana gelebilir. Bu durumlar artan rahatsızlığa ve ağız kokusuna yol açar. İleri düzeyde ataçman ve kemik kaybı olan vakalarda diş mobilitesi, uzamış ya da yer değiştirmiş ön dişler ve diş kaybı bildirilebilir.

1.1.5. Hastalık İlerleyişi

Kronik periodontitis hayatın herhangi bir döneminde gelişebilir. Oral hijyen ihmal edilip plak ve kalkulus akümüasyonu oluştuğunda ilk klinik enflamasyon belirtileri ergenlik döneminde bile ortaya çıkabilir. Kronik periodontitisin ilerleme hızı yavaştır, bu nedenle hastalığın semptomları, genellikle, 40 yaş civarında veya daha ileri yaşlarda ortaya çıkar.

Kronik periodontitis ağızda etkilenen tüm bölgelerde eşit ilerleme hızı göstermez. Bazı alanlar uzun zaman değişmezken, bazı bölgeler daha hızlı ilerler. Daha hızlı ilerleyen lezyonlar sıklıkla interproksimal alanlardır, fazla plak akümüasyonu ve plak kontrolünde ulaşılamayan bölgelerle ilişkilidir (Furkasyon bölgeleri, taşkın restorasyon marjinleri, malpoze dişler, gıda sıkışması olan bölgeler).

Kronik periodontitisin ilerleme hızını tanımlamak ve zaman içinde ataçman kaybının derecesini belirlemek için üç farklı model önerilmiştir (Socransky ve ark., 1984):

Devam eden model: Hastalık ilerleyişi yavaş ve devamlıdır, etkilenen alanlarda sabit bir destrüksiyon hızı vardır.

Rastgele veya episodik ilerleyen model: Destrüksiyon olmayan dönemi kısa süreli yıkımlar izler. Hastalık paterni etkilenmiş alanlara göre rastgeledir.

Eş zamanlı olmayan, çoklu ilerleyen model: Periodontal destrüksiyon etkilenmiş diş yüzeylerinde belirli zamanlarda meydana gelir. Remisyon ve inaktif dönemleri ile kesintiye uğrayan, belirli periyotlarda periodontal yıkımın (patlamaların) oluşumunu açıklar.

1.1.6. Prevelans

Kronik periodontitis insanlarda en sık görülen kronik hastalıklardan biri olarak kabul edilir. Hastalığın prevelans ve şiddeti yaşla artar, genellikle her iki cinsiyeti de eşit etkiler. Periodontitis yaşla ilişkili ancak yaşa bağımlı olmayan bir hastalıktır. Diğer bir deyişle, hastalık prevelansını arttıran hastanın yaşı değil, periodontal dokuların kronik plak akümülyasyonuna maruz kaldığı süredir (Carranza's Clinical Periodontology, s.:346-348).

1.2. Agresif Periodontitis

Agresif periodontitis (AgP), genellikle erken yaşta görülen, vakaların ailesel geçiş göstermesi ile karakterize, nadir görülen, sıklıkla şiddetli, hızlı ilerleyen bir periodontitistir. AgP'in ortak özellikleri Lang ve arkadaşları tarafından (1999) şu şekilde belirlenmiştir (Lang ve ark., 1999):

- Konak yanıtını bozabilecek herhangi bir sistemik hastalık geçmişinin olmaması
- Hızlı ataçman kaybı ve kemik yıkımı
- Vakaların ailesel geçiş göstermesi

AgP sıklıkla yaşamın erken döneminde ortaya çıkar; bu durum etiyolojik ajanın kısa bir süre içinde klinik olarak saptanabilir hastalık durumuna neden olabildiği anlamına gelir. Oldukça virulan bir mikrobiyal biyofilm ile enfeksiyona ve/veya periodontal hastalığa yatkın bir konaktan bahsedilebilir. AgP her yaşta ortaya çıkabilir.

Teşhis konulurken konakçı savunmasını bozabilecek ve erken diş kaybına yol açabilecek sistemik hastalıkların varlığının dışlanması gerekmektedir (Clinical Periodontology and Implant Dentistry, s.:390-391).

1.2.1. Genel Özellikler

1999 uluslararası sınıflandırma çalışmayı tarafından, agresif periodontitis varlığının üç temel özellik ile karakterize edilmesini tanımlanmıştır (Çizelge 1.1.):

1. Hızlı ataçman kaybı ve kemik yıkımı: Kronik periodontitis ile karşılaştırıldığında AgP’te ataçman kaybı oldukça hızlı ilerler. AgP teşhisinde hastanın yaşı birincil kriter olarak değerlendirilmemektedir.
2. Hastanın sistemik olarak sağlıklı olması: Periodontal patojenlere karşı konak savunmasını değiştiren sistemik hastalıklar vardır ve genellikle erken yaşta hızlı ataçman kaybı ve diş kaybına neden olur. AgP teşhisi için hastada bu hastalık gruplarından herhangi birinin bulunmaması gerekmektedir.
3. Hastalığın aynı ailedeki farklı bireylerde görülmesi (Ailesel geçiş): AgP vakalarının ailelerde toplanması hastanın tıbbi/dental geçmişi sorgulanarak öğrenilebilir.

Çizelge 1.1. Kronik ve agresif periodontitisin ayırt edici özellikleri.

Kriter	Agresif Periodontitis	Kronik Periodontitis
İlerleme hızı	Hızlı	Yavaş; hızlı evreler izlenebilir
Ailesel tutulum	Tipik	Oral hijyen alışkanlıkları yeterli olmayan aile üyelerinde görülebilir
Etiyolojik faktörlerin varlığı (Plak, kalkulus, taşkın restorasyon vb.)	Genellikle minimal düzeyde	Sıklıkla periodontal yıkımla orantılı
Yaş	Sıklıkla 35 yaş altı genç hastalarda fakat her yaş grubunda görülebilir	Sıklıkla 55 yaş üstü hastalarda fakat her yaş grubunda görülebilir
Klinik enflamasyon bulguları	Bazı durumlarda bulgu yoktur (özellikle lokalize agresif periodontitis varlığında)	Etiyolojik faktörlerle bağlantılı

Ek olarak, genellikle AgP vakalarında bulunan ancak hastalığın teşhisi için evrensel olarak şart olmayan birkaç ikincil özellik tanımlanmıştır:

- a. Mevcut etyolojik faktörlerin miktarları ile gözlenen doku yıkımının uyumsuzluğu
- b. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) ve (bazı popülasyonlarda) *Porphyromonas gingivalis*'in (*P.gingivalis*.) yoğun kolonizasyonu
- c. "Sistemik hastalığın bir belirtisi olarak periodontitis" tanısını gerektirmeyen immünolojik farklılıklar:
 - Bakteriyel endotoksinlere cevapta yüksek prostoglandin E2 (PGE2) ve interlekin-1 beta (IL-1 β) üretimini içeren aşırı duyarlı makrofaj fenotipi
 - Nötrofil fonksiyonunun anormallikleri
- d. Kendi kendini sınırlayan hastalık

1.2.2. Hastalığın dağılımı

1.2.2.1. Generalize Agresif Periodontitis (GAP)

1. molar dişler ve kesici dişler dışında en az üç daimi dişi etkileyen generalize interproksimal ataçman kaybı mevcuttur. GAP; yıkımın şiddeti, yaygınlığı ve aynı zamanda geniş heterojenitesi ile karakterize periodontal hastalık alt grubudur. GAP tanısı, daha önce juvenil periodontitis ve hızlı ilerleyen periodontitis olarak sınıflandırılan hastalıkları kapsar.

GAP vakalarında iki gingival yanıt izlenebilir. Biri şiddetli, akut enflamatuvar bir dokudur, sıklıkla büyümüş, ülser ve hiperemiktir. Kendiliğinden veya hafif uyarı ile kanama meydana gelebilir. Bu yanıtın, ataçman ve kemiğin aktif olarak rezorbe olduğu yıkıcı aşamada meydana geldiğine inanılmaktadır.

Diğer yanıtta ise, gingival dokular pembe görünebilir, enflamasyonsuz olabilir. Bununla birlikte, hafif klinik enflamasyon görüntüsüne rağmen, sondalamada derin cepler tespit edilir. Page ve Schroeder, bu yanıtın kemik seviyesinin sabit kaldığı pasif dönemlerde izlendiğini belirtmiştir (Page ve ark., 1982).

1.2.2.2. Lokalize agresif periodontitis (LAP)

Biri 1. molar diş olmak üzere en az iki kalıcı dişte interproksimal ataçman kaybı ve 1. molar ve kesici dişler dışında en fazla iki dişi içeren lokalize yıkımlar mevcuttur. LAP, GAP ile kıyaslandığında etkilenme yaşının daha küçük olduğu görülmüştür. Periodontal patojenlere karşı GAP hastalarında bulunandan daha fazla sistemik antikor titreleri mevcuttur. Bu durum, hastalığa duyarlı kişilerde patojenlere karşı güçlü bir yanıt oluşturma ile hastalığın sınırlandırılabilceğini göstermektedir. LAP ve GAP'ın aynı temel hastalığın fenotipik varyasyonları olduğu varsayılmaktadır (Carranza's Clinical Periodontology, s.:352-355).

1.2.3. Periodonsiyumun Enflamatuvar Yanıtı

Periodontitisin patogenezinde rol oynayan moleküller genel olarak iki ana gruba ayrılabilir: Subgingival mikrobiyadan üretilenler (mikrobiyal virülans faktörleri) ve konakçı immün-enflamatuvar yanıtından üretilenler. Doku yıkımının çoğunun konakçı enflamatuvar süreçlerinden kaynaklandığı açıktır.

1.2.4. Mikrobiyal Virülans Faktörler

Subgingival biyofilm, gingival ve periodontal dokularda enflamatuvar yanıtı başlatır ve devam ettirir. Subgingival bakteriler ayrıca zararlı maddelerin ekspresyonu ile doku hasarına doğrudan katkıda bulunur, ancak periodontal patogenezdaki birincil önemi doku hasarı oluşturarak immün-enflamatuvar yanıtı ve ayrıca doku hasarına neden olan immün-enflamatuvar yanıtı aktive etmektir.

1.2.4.1. Lipopolisakkaritler

Lipopolisakkaritler (LPS'ler), bir lipit bileşeninden (lipid A) ve bir polisakkarit bileşeninden oluşan büyük moleküllerdir. Gram negatif bakterilerin dış zarında bulunur, endotoksin gibi davranır (LPS sıklıkla endotoksin olarak adlandırılır) ve hayvanlarda güçlü bağışıklık tepkileri ortaya çıkarırlar. LPS'ler gram-negatif bakteri türlerinde yüksek oranda bulunur. Hayvanlardaki bağışıklık sistemleri, *Drosophila*'dan (bir meyve sineği cinsi) insanlara kadar değişen hayvan türlerinde yüksek oranda bulunan bir hücre yüzeyi molekülleri ailesi olan Toll benzeri reseptörler (TLR'ler) aracılığıyla LPS'yi tanıyacak şekilde gelişmiştir ve böylece doğuştan gelen immün yanıtın önemini göstermektedir (Cekici ve ark., 2014). TLR'ler, patojenler üzerinde bulunan mikroplarla ilişkili moleküler modelleri (MAMP'ler) tanıyan hücre yüzeyi reseptörleridir. TLR-4, gram-negatif bakterilerden LPS'yi tanır ve CD14 ve MD-2 dahil olmak üzere bir hücre yüzeyi molekülleri kompleksinin parçası olarak işlev görür. Bu CD14/TLR-4/MD-2 kompleksinin LPS ile etkileşimi, bir dizi hücre içi olayı tetikler; mediyatörlerin (en önemlisi sitokinlerin) üretimi artar ve immün hücreler patojenlere karşı etkili immün yanıtın geliştirilmesi için diferansiye olur (örn. Dendritik Hücreler). LPS, gingival ve periodontal dokularda enflamatuvar yanıtın başlatılması ve sürdürülmesi için kilit öneme sahiptir. *P. gingivalis*, hem TLR-2 hem de TLR-4.38,45 tarafından tanınan atipik bir LPS formuna sahiptir (Darveau ve ark., 2009, Dixon ve ark., 2005).

1.2.4.2. Bakteriyel Enzimler ve Zararlı Ürünler

Plak bakterileri, doku hasarına doğrudan katkıda bulunan çeşitli metabolik atık ürünler üretir. Bunlar arasında amonyak (NH₃) ve hidrojen sülfid (H₂S) gibi zararlı maddeler ve butirik asit ve propiyonik asit gibi kısa zincirli karboksilik asitler bulunur. Bu asitler dişeti oluşu sıvısında (DOS) tespit edilebilir ve periodontal hastalığın şiddeti arttıkça konsantrasyonları artar. Bu maddelerin konakçı hücreler üzerinde derin etkileri vardır (Örneğin, butirik asit T hücrelerinde, B hücrelerinde, fibroblastlarda ve dişeti epitel hücrelerinde apoptozu indükler) (Kurita-Ochiai ve ark., 2003, Kurita-Ochiai ve

ark., 2008, sorkin ve ark., 1998). Kısa zincirli yağ asitleri doku yıkımı yoluyla *P. gingivalis* enfeksiyonuna yardımcı olabilir ve ayrıca periodontal cepte kanamayı artırarak mikroorganizmalar için besin kaynağı oluşturabilirler. Kısa zincirli yağ asitleri ayrıca bağışıklık hücreleri tarafından sitokin salgılanmasını etkiler ve LPS, interleukin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekrotizan faktör- α (TNF- α) gibi proinflatuar uyaranlara maruz kaldıktan sonra enflamatuar tepkiyi şiddetlendirebilir (Niederman ve ark., 1997).

Plak bakterileri, kolajen, elastin ve fibronektin gibi periodonsiyumun yapısal proteinlerini parçalayabilen proteazlar üretir. Bakteriler, proteinleri sindirmek için bu proteazları üretir ve böylece bakteriyel beslenme için peptidler sağlar. Bakteriyel proteazlar konakçı tepkilerini ve doku bütünlüğü bozar, dokulardaki mikrobiyal istilayı kolaylaştırır.

1.2.4.3. Mikrobiyal İnvazyon

Histolojik örneklerde, epitelin hücreler arası boşluklarında bakteriler (kok, filamentler ve çubuklar) tanımlanmıştır (Frank ve ark., 1980). *P. gingivalis* ve *A.a* gibi periodontal patojenlerin gingival dokulara ve bağ dokusuna invaze olduğu bildirilmiştir. (Christersson ve ark., 1987, Hillmann ve ark., 1998, Saglies ve ark., 1988, Saglie ve ark., 1982). *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) oral epitel hücrelerini istila edebilir ve konakçı hücreleri rutin olarak istila eden bakterilerle koagregasyon yaparak invaziv olmayan bakterilerin girişini kolaylaştırabilir. *A.a*'nın da epitel hücrelerini istila edebileceği gösterilmiştir (Fives-Taylor ve ark., 1996). Bu bulguların klinik olarak önemi net değildir, ancak güncel çalışmalar *P. gingivalis* gibi türlerin dokularda bulunabilmesine rağmen, esas olarak epitel içinde olduklarını bildirmiştir (Bartold ve ark., 2013).

1.2.4.4. Fimbria

Bazı bakteri türlerinin fimbriaları (özellikle *P. gingivalis*) periodontal patogeneizde rol oynayabilir. *P. gingivalis* fimbriası IL-6 üretimi gibi immün yanıtları

uyarmaktadır (Lamont ve ark., 1998, Ogawa ve ark., 1995) ve *P. gingivalis*'in ana fimbriyal yapısal bileşeni olan FimA'nın nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) ve IL-8'i uyardığı gösterilmiştir. Monositler *P. gingivalis* FimA tarafından uyarılır ve IL-6, IL-8 ve TNF- α salgırlar (Eskan ve ark., 2007). *P. gingivalis* fimbriyası ayrıca, TLR-2 sinyalizasyonunun aracılık ettiğı IL-12 üretimini inhibe eden hücre içi sinyal yollarını aktive etmek için, kompleman reseptörü-3 (CR-3) ile etkileşime girer. Bu durum klinik açıdan anlamlı olabilir; çünkü IL-12 natural killer (NK) hücrelerin ve CD8 + sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonunda önemlidir. Aslında, CR-3 reseptörünün blokajı, *P. gingivalis*'in virölansını ortadan kaldırır (Hajishengaliis ve ark., 2007). Bu nedenle bakteriyel fimbria, periodonsiyumdaki immün yanıtları modifiye etmek ve uyarmak için önemlidir.

1.2.5. Konaktan Salınan Enflamatuvar Mediatörler

Subgingival biyofilmin uzun süreli varlığına yanıt olarak periodontal dokularda gelişen enflamatuvar ve immün yanıtlar koruyucudur, ancak önemli ölçüde doku hasarına neden olabilir ve bu yolla periodontal hastalığın klinik belirti ve semptomları ortaya çıkar. Konakçı yanıtının doku hasarına neden olması durumu periodontal hastalığa özgü değildir.

1.2.5.1. Sitokinler

Sitokinler; enflamasyonda temel rol oynar ve periodontal hastalığın anahtar enflamatuvar mediatörlerindendir (Preshaw ve ark., 2011). Çözünür proteinlerdir ve sinyalleri bir hücreden diğerine iletmek için haberci görevi görürler. Sitokinler, hedef hücreler üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanır ve değiştirilmiş gen regülasyonu ile hücrede fenotipik değişikliklere neden olan hücre içi sinyal zincirlerini başlatır (Birkedal-Hansen, 1993, Taylor ve ark., 2004). Sitokinler, çok düşük konsantrasyonlarda etkilidir, dokularda geçici olarak üretilir ve esas olarak üretildikleri dokularda lokal olarak görev alırlar. Sitokinler, otokrin veya parakrin

olarak kendi ekspresyonlarını indükleyebilir ve çok sayıda hücre tipi üzerinde pleiotropik etkilere (çoklu biyolojik aktivite) sahiptirler. Özetle, sitokinler hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanır ve bir dizi hücre içi olayları tetikler, hedef hücrede sitokin salgılanmasının artmasıyla sonuçlanan protein üretimine yol açar.

Sitokinler, infiltre enflamatuvar hücreler (örneğin nötrofiller, makrofajlar, lenfositler) ve ayrıca periodonsiyumda yerleşik hücreler (örneğin fibroblastlar, epitel hücreleri) dahil olmak üzere çok sayıda hücre tipi tarafından üretilir. Sitokinler, immün yanıtı başlatır, yayar ve güçlendirir; ilaveten immün-enflamatuvar yanıtın düzenlenmesi ve enfeksiyonla mücadele için temelde önemlidir. Kronik enflamasyon ile doku hasarına yol açan biyolojik etkilere sahiptir. Periodonsiyumda sitokinlerin ve diğer enflamatuvar mediatörlerin uzun süreli ve aşırı üretimi, hastalığın klinik belirtilerini karakterize eden doku hasarına yol açar (Bartold ve ark., 2006). Sitokinler periodontal hastalıklarda immün yanıtın tüm aşamalarında anahtar rol oynar (Preshaw ve ark., 2011).

1.2.5.2. Prostaglandinler (PG)

Prostaglandinler, çoğu hücre zarında bulunan çoklu doymamış bir yağ asidi olan araşidonik asitten türetilen bir grup lipid bileşiğidir. Araşidonik asit; PG'ler, tromboksanlar ve prostasiklinleri içeren prostanoidler adı verilen bir dizi bileşik oluşturmak için siklooksijenaz-1 ve 2 (COX-1 ve COX-2) tarafından metabolize edilir. PG'ler önemli enflamatuvar mediatörlerdendir. Prostaglandin E₂ (PGE₂), vazodilatasyona neden olur ve çeşitli hücre tipleri tarafından sitokin üretimini indükler. COX-2, IL-1 β , tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve bakteriyel LPS'ler enflamatuvar dokularda PGE₂ üretiminin artmasına neden olur. PGE₂, periodonsiyumdaki makrofajlar ve fibroblastlar başta olmak üzere çeşitli hücreler tarafından üretilir. PGE₂, matriksmetalloproteinazları ve osteoklastik kemik rezorpsiyonunu indükler. Periodontitisteki doku hasarında önemli bir role sahiptir (Carranza's Clinical Periodontology, s.: 94-96).

1.2.5.3. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)

MMP'ler, kollajenler de dahil olmak üzere ekstraselüler matriks moleküllerini parçalayabilen çinkoya bağımlı bir enzim ailesidir (Birkedal-Hansen, 1993, Ryan ve ark., 1996). MMP'ler periodontal doku yıkımında önemli bir rol oynar ve fibroblastlar, keratinositler, endotel hücreler, osteoklastlar, nötrofiller ve makrofajlar dahil olmak üzere periodonsiyumdaki hücre türlerinin çoğu tarafından salgılanır. Sağlıklı dokularda MMP'ler esas olarak MMP-1 (kollajenaz-1 olarak da bilinir) üreten fibroblastlar tarafından üretilir ve bunlar periodontal bağ dokusunun korunmasında rol oynar. MMP'leri kodlayan genlerin transkripsiyonu, IL-1 β ve TNF- α (MacNaul ve ark., 1990) gibi sitokinler tarafından arttırılır. MMP aktivitesi, spesifik endojen metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP) ve aktif MMP'ler ile kompleksler oluşturan α -makroglobulinler gibi serum glikoproteinleri ve bunların latent formları tarafından düzenlenir (Reynolds ve ark.,1997). TIMP, fibroblastlar, makrofajlar, keratinositler ve endotelyal hücreler tarafından üretilir (Hannas ve ark., 2007). MMP'ler ayrıca *A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis* gibi bazı periodontal patojenler tarafından üretilir, ancak bakteriyel olarak üretilen MMP'lerin periodontal patogeneze katkısı küçüktür. Periodontal dokulardaki çoğu MMP aktivitesi, infiltrate enflamatuvar hücrelerden elde edilir.

Sağlıklı periodontal dokularda, kollajen homeostazı, MMP-1 (yerleşik hücreler-primer olarak fibroblastlar- tarafından üretilir) tarafından hücre dışı olarak ve çeşitli lizozomal aside bağımlı enzimlerin hücre içinde aracılık ettiği kontrollü bir süreçtir. Enflame periodontal dokularda aşırı miktarlarda MMP, yerleşik hücreler tarafından ve dokulardan geçerken çok sayıda infiltrate olan enflamatuvar hücreler (özellikle nötrofiller) tarafından salgılanır. Sonuç olarak, MMP'ler ve inhibitörleri arasındaki denge bozulur, bu da bağ dokusu matriksinin (Birkedal-Hansen, 1993, Tervahartiala ve ark., 2000) parçalanmasıyla sonuçlanır ve daha önce tarif edildiği gibi bağ dokusu içinde kollajenin bulunmadığı alanların gelişmesine yol açar. Nötrofiller, periodontitiste enflamatuvar periodontal dokularda çok sayıda biriken anahtar infiltrasyon hücreleridir. Nötrofiller, bakteriyel LPS gibi dış uyaranlara hızlı ve agresif bir şekilde yanıt verecek şekilde evrimleşmiştir ve yıkıcı enzimleri büyük miktarlarda ve oldukça hızlı bir şekilde

salgılarları (Nicu ve ark., 2016). Periodontitiste, MMP-8 ve MMP-9 nötrofiller tarafından salgılanan baskın MMP'lerdir (Golub ve ark., 1995), periodontal ligamentte en sık bulunan kolajen olan tip 1 kolajeni parçalamada etkilidir (Mariotti, 1993). MMP-8 ve MMP-9 seviyeleri periodontal hastalığın şiddeti arttıkça artar ve tedavi sonrası azalır (Golub ve ark., 1990, Golub ve ark., 1995, Kinane ve ark., 2003). Periodonsiyumda fazla miktarda MMP salınması, bağ dokusunun yapısal bileşenlerinin önemli ölçüde parçalanmasına yol açar ve böylece hastalığın klinik belirtilerine katkıda bulunur.

MMP'ler, bağ dokusu homeostazında ve hastalık patogenezinde temel rol oynar ve periodontitis ile ilgili çok çeşitli biyolojik etkilere sahiptir (Tablo 2). MMP'ler alveoler kemik yıkımında önemlidir. Katepsin K'yı da eksprese eden osteoklastlar tarafından eksprese edilirler. Katepsin K, esas olarak osteoklastlarda eksprese edilen, kemik rezorpsiyonu ve yeniden şekillenmesinde anahtar rol oynayan bir lizozomal sistein proteazdır. Bu enzim kolajen, jelatin ve elastini katabolize edebilir ve bu nedenle kemik ve kırıkdağın parçalanmasına katkıda bulunabilir.

Çizelge 1.2. Periodontal hastalıkla ilişkili MMP'lerin biyolojik aktiviteleri

MMP tipi	Enzim	Biyolojik aktivite
Kollajenazlar	Tümü	Dokular arası kolajenlerin parçalanması (Tip I, II ve III)
		Ekstraselüler matriks (ESM) ve ESM olmayan moleküllerin parçalanması
	MMP-1	Keratinosit göçü ve yeniden epitelizasyon
	MMP-13	Platet agregasyonu
Jelatinazlar	Tümü	Osteoklast aktivasyonu
	MMP-2	Denatüre kolajen ve jelatinin degrade olması
		Enflamatuar fenotiple mezenşimal hücrelerin farklılaşması
		Epitelial hücre migrasyonu
Stromelinler	Tümü	MMP-9'un biyoyararlanımının artması
	MMP-3	ESM moleküllerinin parçalanması
		Pro-MMP'lerin aktivasyonu
		Hücre agregasyonunun bozulması
Matrilisinler	MMP-7	Hücre invazyonunun artması
		Hücre agregasyonunun bozulması
		Hücre invazyonunun artması
Membran tipi MMP'ler	Tümü	ESM moleküllerinin parçalanması
		Pro-MMP-2 aktivasyonu (Membran tipi (MT) MT4-MMP hariç)
	MT1-MMP	Epitel hücre migrasyonu
		Degrade kolajen tipleri I, II ve III

MMP'ler, özellikle MMP-9 ve MMP-14, rezorpsiyon bölgesine osteoklast erişimi için kritik role sahiptir. MMP-14, osteoklast sınırında bulunur ve osteoblastlar ve osteositler (ancak osteoklastlar değil), rezorpsiyon lakününde bulunan ve osteoklastlar tarafından bırakılan kollajen kalıntılarını uzaklaştırma işlevi gören MMP-13'ü eksprese eder (Hannas ve ark., 2007). MMP'ler ayrıca, sitokinleri ve NF- κ B ligandının reseptör aktivatörünü serbest bırakarak osteoklast aktivitesine katkıda bulunur (RANKL). MMP'ler ayrıca MMP-2, MMP-9, MMP-13 ve MMP-14 dahil olmak üzere osteoblastik kemik oluşumunda önemlidir. MMP-14 ayrıca normal kemik homeostazına katkıda bulunur ve MMP-14 ile aktive edilen transforming growth factor- β (TGF- β) osteoblast apoptozunu inhibe eder (Carranza's Clinical Periodontology, s.: 94-100).

Matriks metalloproteinazlar beş ana gruba ayrılır:

1. Kolajenazlar (MMP 1, 8 ve 13)
2. Jelatinazlar (MMP 2 ve 9)
3. Stromelisinler (MMP 3, 10 ve 11)
4. Membran tipi matriks metalloproteinazlar (MMP 14, 15, 16 ve 17)
5. Diğerleri (Sorsa ve ark., 2004, Sorsa ve ark., 2006).

MMP'ler, ekstraselüler matriks ve bazal membranın neredeyse tüm bileşenlerini bozabilir ve MMP'lerin patolojik olarak hiperreaktivitesi periodontal doku tahribatına yol açar (Gesell-Salazar ve ark., 2013, Sorsa ve ark., 2004, Sorsa ve ark., 2006). Enzim, aktivatör, inhibitör, sitokin ve büyüme faktörlerinin üretimi gibi hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri; bağ dokusunun yeniden şekillendirilmesi ve doku matriks yıkımını düzenler (Butler ve ark., 2013, Giannobile ve ark., 2008, Hernandez ve ark., 2011, Sorsa ve ark., 2004, Sorsa ve ark., 2006). MMP'ler, doku inhibitörleri tarafından kontrol ve inhibe edilir. MMP'ler ayrıca sitokin, kemokin, büyüme faktörleri ve immün araçlar gibi çeşitli biyoaktif non-matriks substratlara bağlanabilir ve böylece hem anti- hem de proinflamatuvar süreçlere aracılık edebilir (Butler ve ark., 2013, Giannobile ve ark., 2008, Hernandez ve ark., 2011(1), Hernandez ve ark., 2011(2), Kuula ve ark., 2009, Sorsa ve ark., 2006). Bu nedenle, MMP seviyeleri, sadece doku

yıkımının belirteçleri olarak değil, aynı zamanda fizyolojik veya antienflamatuar savunmanın bir parçası olarak da yorumlanmalıdır (Butler ve ark., 2013, Giannobile ve ark., 2008, Hernandez ve ark., 2011(1), Hernandez ve ark., 2011(2), Kuula ve ark., 2009). Bakteriyel invazyona yanıt olarak, polimorfonükleer lökositler ve monositler / makrofajlar, enflamasyon bölgelerine göç ederek MMP-8 ve MMP-9'u degranüle eder (Sorsa ve ark., 2006, Uitto ve ark., 1990). MMP ve MMP doku inhibitörleri (TIMP) arasındaki bir dengesizliğin periodontitiste gözlenen patolojik doku yıkımına yol açtığına inanılmaktadır (Sorsa ve ark., 2011, Sorsa ve ark., 2004, Sorsa ve ark., 2006).

1.2.5.3.1. MMP-8'in Teşhisteki Rolü

Periodontitiste gingival bağ dokusundaki ana kolajenaz MMP-8'dir (Ingman ve ark., 1993, Ingman ve ark., 1996, Kiili ve ark., 2002, Sorsa ve ark., 2004, Sorsa ve ark., 2010, Sorsa ve ark., 2006, Sorsa ve ark., 1988, Uitto ve ark., 1990, Uitto ve ark., 1987). Ayrıca DOS'taki kollajenolitik aktivitenin %90-95'i MMP-8'den kaynaklanır (Golub ve ark., 1990, Ingman ve ark., 1993, Ingman ve ark., 1996). Genel olarak, aktif/tedavi edilmemiş periodontitisli alanlar sağlıklı alanlarla kıyaslandığında artmış DOS kollajenaz aktivitesi ve MMP-8 seviyelerinin; tip I kolajen yıkım ürünlerinin seviyeleri ile ilişkili olduğu, MMP-1 doku inhibitörleri tarafından sağlanan koruyucu kalkanı geçtiği bulunmuştur (Gursoy ve ark., 2010, Hernandez ve ark., 2007, Hernandez ve ark., 2011, Sorsa ve ark., 2006). Başarılı periodontal tedavi ve yardımcı MMP inhibitör ilaçlarının periodontitisin ilerlemesini durdurduğu ve oral sıvılarda MMP seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Butler ve ark., 2013, Caton ve ark., 2001, Chen ve ark., 2000, Ciancio ve ark., 1998, Crout ve ark., 1996, El-Sharkawy ve ark., 2010, Emingil ve ark., 2004, Emingil ve ark., 2012, Emingil ve ark., 2008, Gangbar ve ark., 1990, Golub ve ark., 1998, Golub ve ark., 2008, Golub ve ark., 1987, Golub ve ark., 2001, Golub ve ark., 1991, Golub ve ark., 1992, Golub ve ark., 1985, Goncalves ve ark., 2013, Sorsa ve ark., 2011, Sorsa ve ark., 1999, Sorsa ve ark., 2004, Sorsa ve ark., 2010, Sorsa ve ark., 2006).

Geleneksel periodontal tedavi, dişeti oluğu sıvısındaki (DOS) MMP-8 seviyesini dűřürür (Chen ve ark., 2000, Gangbar ve ark., 1990, Ingman ve ark., 1996, Mantyla ve ark., 2003), ancak periodontitisli hastalardan alınan DOS'ta, azalmış MMP-8 seviyesi periodontal olarak sağlıklı bireylerdekine göre genellikle daha yüksek bir seviyede kalır (Mantyla ve ark., 2003). Periodontitis hastalarında tedavi yanıtı periodontal cep derinliğinin azalması ve klinik ataçman seviyesinin artması ile birlikte dip-stick testi, IFMA ve dentoELISA kullanılarak elde edilen oral sıvı MMP-8 ölçümleri ile gösterilebilir. (Leppilahti ve ark., 2011, Leppilahti ve ark., 2014(1), Leppilahti ve ark., 2014(2), Mantyla ve ark., 2003). Bu nedenle, MMP-8, hastalıklı periodontal ve peri-implant dokularda ve oral sıvılarda hasta başı periodontitis/peri-implantitis testlerinde potansiyel bir belirteç olarak kabul edilebilir (Herr ve ark., 2007, Kivela-Rajamaki ve ark., 2003(1), Kivela-Rajamaki ve ark., 2003(2), Mantyla ve ark., 2003, Sorsa ve ark., 2011, Sorsa ve ark., 2006, Teronen ve ark., 1997).

1.2.5.3.2. Periodontitisin Teşhis Belirteci Olarak Tükürük MMP Değerleri

Tükürük, tükürük bezlerinin hafif asidik ve berrak salgısıdır. Tüm tükürük büyük ölçüde başlıca tükürük bezleri (parotis, mandibuler ve sublingual) tarafından üretilirken, küçük tükürük bezleri toplamın %10'una katkıda bulunur (Navazesh ve ark., 2008). Tükürük esas olarak az miktarda organik ve inorganik bileşikler içeren sudan oluşur; bununla birlikte, protein, oral mikroorganizmaların ve konağın diğer hücrelerini de içerir. Ayrıca tükürükte; DOS, ağız yaraları yoluyla ağız boşluğuna sızan serum ve kan bileşenleri tespit edilebilmektedir (Kaufman ve ark., 2002).

Tükürüğün tanı sıvısı olarak kullanımını araştıran çalışmaların uzun bir geçmişi vardır. Bu non-invaziv yaklaşım sadece ağız hastalıklarının teşhisi ile sınırlı değildir çünkü farklı kanser türleri, kardiyovasküler hastalıklar, immünolojik sendromlar ve kalıtsal bozukluklar gibi birçok sistemik hastalık tükürük teşhisi yardımı ile de incelenebilir (Al-Tarawneh ve ark., 2011, Cuevas-Cordoba ve ark., 2014, Gesell-Salazar ve ark., 2013, Miller ve ark., 2010).

Periodontitis teşhisinde tükürük proteinlerinin analizi ilk olarak 70 yıl önce Berg ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (Berg ve ark., 1946). MMP'ler arasında tükürükte periodontitis teşhisinde en yaygın olarak çalışılan MMP-8'dir. Nötrofilden üretilen MMP-8, tükürük MMP-8'inin ana kaynağıdır, ayrıca bu üretime gingival fibroblastların az da olsa katkısı bulunur (Ding ve ark., 1994). Artmış MMP-8 seviyeleri generalize periodontitisli bireylerin tükürük örneklerinde ölçülmüştür (Ebersole ve ark., 2013, Gursoy ve ark., 2010, Ingman ve ark., 1996, Miller ve ark., 2006, Rai ve ark., 2008, Rathnayake ve ark., 2013, Sorsa ve ark., 2011, Uitto ve ark., 1990). Ayrıca periodontal tedaviden sonra tükürük MMP-8 seviyelerinde gözlenen azalma (El-Sharkawy ve ark., 2010, Sexton ve ark., 2011, Uitto ve ark., 1990) periodontal teşhiste bir belirteç olarak tükürük MMP-8'in değerini göstermektedir.

1.3. Oksidatif Stres

1.3.1. Terminoloji

1.3.1.1. Serbest Radikaller

Bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren, bağımsız oluşma yeteneğine sahip moleküller olarak tanımlanmıştır (Halliwell ve ark., 1991). Doğaları gereği, oldukça reaktif türlerdir, elektronları çeker ve böylece hücre ve doku işlevi için hayati önem taşıyan çeşitli biyomolekülleri oksitleyebilirler.

1.3.1.2. Antioksidanlar

Oksidize olabilen maddelere göre daha az konsantrasyonda bulunan, maddelerin oksidizasyonunu inhibe eden ya da erteleyen moleküller olarak tanımlanır (Halliwell ve ark., 1989).

Normal fizyolojide, reaktif oksijen türleri (ROT) aktivitesi ile antioksidan savunma kapasitesi arasında dinamik bir denge vardır ve bu denge, ya antioksidan savunmada bir azalma ya da ROT üretiminde veya aktivitesinde bir artışla ROT lehine değiştiğinde, oksidatif stres ortaya çıkar.

1.3.1.3. Oksidatif Stres

Sies tarafından “pro-oksidan-antioksidan dengesinde pro-oksidan lehine bir bozulma ve potansiyel hasara yol açan bir bozukluk olarak tanımlanmıştır (Sies ve ark., 1991).

1.3.1.4. Redoks Potansiyeli

Hidrojene kıyasla bir maddenin elektronlar için afinitesinin (volt cinsinden) bir ölçüsüdür. Hidrojenden daha güçlü elektronegatif maddeler (yani hidrojeni oksitleyebilen), pozitif redoks potansiyeline sahiptir ve oksitleyicidir. Hidrojenden daha az elektronegatif (yani indirgeyebilen) maddeler negatif redoks potansiyeline sahiptir ve indirgeyici maddelerdir. Oksidasyon ve indirgeme reaksiyonları her zaman birliktedir ve redoks reaksiyonları olarak adlandırılır.

1.3.1.5. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipit, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Süperoksit radikali (O_2^-) ve hidroksil radikali ($OH^\bullet$) sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesi artar. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer aminoasit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin

artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Aterogenez, amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, Duchenne tipi musküler distrofi, gebelik preeklampsisi, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, diabetes mellitus, akut renal yetmezlik, Down sendromu, yaşlanma, serebrovasküler bozukluklar gibi durumlarda serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı söz konusudur.

1.3.1.5.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri (L) ve lipid peroksit radikallerinin (LOO) oluşması, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "*nonenzimatik lipid peroksidasyonu*" denir. Lipit radikallerinin (L) moleküler oksijenle (O_2) etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikalleri (LOO) oluşur. Lipit peroksit radikalleri (LOO), membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine (LOOH) dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder.

Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur (Chapple ve ark., 2007).

1.3.1.5.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin süperoksit radikali (O_2) veya hidrojen peroksitle (H_2O_2) reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur.

1.3.1.5.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Süperoksit (O_2) maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterdikleri saptanmıştır. Bu oldukça önemli bir etkidir, çünkü otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritematozusta (SLE) ve romatoid artrit (RA) dolaşımında anti-DNA antikorlar saptanmıştır. Bu anti-DNA antikorlarının süperoksit maruz kalmış DNA molekülleri olduğu düşünülebilir.

1.3.1.5.4.8. Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)

8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), vücut sıvılarında DNA hasarı sonucu ortaya çıkan oksitlenmiş bir nükleozittir (Cheng ve ark., 1992, Shigenaga ve ark., 1989). 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının en yaygın stabil ürünüdür. Çalışmalar, vücut

sıvılarındaki 8-OHdG'nin oksidatif stresin belirteci olarak değerdendirilebileceğini, ilaveten malignite, enflamatuar ve otoimmün bozuklukların patogeneğinde rol oynadığını göstermiştir (Wu ve ark., 2004). Tükürük 8-OHdG seviyeleri Sjögren sendromu (Ryo ve ark., 2006), oral kanserler (Kasai ve ark., 1986) ve periodontitis Rai ve ark., 2007) gibi çeşitli oral patolojilerde çalışılmıştır. Periodontal durumun veya periodontal tedavinin etkinliğinin değerdendirilmesinde 8-OHdG ile periodontopatojen bakteriler arasındaki ilişki ve tükürükte 8-OHdG seviyesinin tespitinin faydalı olduğu bildirilmiştir.

Literatürdeki bu bilgiler ışığında periodontal hastalık patogeneğinde 8-OHdG ve MMP-8'in rolünün birlikte araştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Tükürük ve serum 8-OHdG ve MMP-8 değerdlerinin periodontal durumun tespitinde kullanılabilecek etkin biyobelirteçler olabileceği ana araştırma hipotezi olarak belirlenmiştir.

Çalışmanın amacı; periodontitis hastaları ve periodontal olarak sağlıklı bireylerde tükürük ve serum 8-OHdG ve MMP-8 seviyelerini belirlemek ve hastalık belirteçleri olarak kullanımlarındaki değerdliliği saptamaktır.

2. MATERYAL VE METOT

Araştırma örneklemini, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne 2011-2013 yılları arasında başvuran periodontal açıdan sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerden elde edilen tükürük ve serum örnekleri oluşturmaktadır.

Bu kapsamda, mevcut örneklerden örneklem büyüklüğü hesaplamaları göz önüne alınarak periodontitis tanısı konmuş 40 (agresif periodontitis=20; kronik periodontitis=20) ve periodontal açıdan sağlıklı 20 birey, toplamda 60 birey seçilmiştir. Bu bireylerin mevcut serum ve tükürük örneklerinde MMP-8 ve 8-OHdG seviyeleri ELISA yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamız; araştırmada insan deneklerin kullanımı açısından Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurul tarafından incelenmiş ve onaylanmıştır (No: 12/04, 04.11.2020). Çalışma, 2008 yılında revize edilen 1975 Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yürütülmüştür. Tüm katılımcılardan imzalı bilgilendirilmiş onay formu alınmıştır.

Periodontal olarak sağlıklı gruplar; periodontal hastalık hikayesi olmayan, cep derinliği ≤ 3 mm ve klinik ataçman kaybı ≤ 1 mm olan; klinik gingival enflamasyon belirtileri olmayan ve iyi oral hijyene sahip bireylerden oluşmuştur.

Kronik periodontitis (KP) Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin 1999 kriterlerine göre, hastalığın yaygınlığı ve şiddeti de göz önünde bulundurularak, teşhis edildi (Altingoz ve ark., 2020).

KP grubundaki hastalar için dahil edilme kriterleri şunlardır:

- 1) En az 16 daimi diş varlığı,
- 2) En az 6 mm cep derinliğine (CD) sahip 8 bölge,
- 3) En az 2 farklı kadradaki 4 veya daha fazla bölgede 5 mm'ye eşit veya daha fazla klinik ataçman kaybı (KAK) varlığı (Avouac ve ark., 2010).

AgP grubundaki hastalar için dahil edilme kriterleri aşağıdaki gibidir:

- 1) Kesici dişler ve/veya birinci molar dişler dahil en az 6 daimi diş varlığı,
- 2) Birinci azılar ve keserler hariç 6 dişin en az bir bölgesinde 5 mm'ye eşit veya daha fazla CD ve KAK varlığı,
- 3) Ailesel yatkınlık (Tüm bireylere şu anda veya geçmişte şiddetli periodontal hastalık öyküsü olan herhangi bir aile üyesi olup olmadığı soruldu.)
- 4) Periodontal ataçman ve kemikte hızlı yıkım (Armitage ve ark., 1999).

Periodontal hastalıkların yeni sınıflandırmasına göre, en büyük kaybın olduğu bölgede interdental KAK ve hastaların kompleks rehabilitasyona ihtiyaç duymadığı göz önünde bulundurularak mevcut çalışmada tüm periodontitis hastalarına Evre III teşhisi konulmuştur (Chapple ve ark., 2007).

Tüm gruplar için dahil etmeme kriterleri şunlardır:

- 1) Son 3 ay içinde sistemik antibiyotik veya antienflamatuar ilaç kullanımı,
- 2) Son 6 ay içinde cerrahi olmayan periodontal tedavi görmek,
- 3) Son 12 ay içinde cerrahi periodontal tedavi görmek,
- 4) Kalsiyum kanal blokerleri, fenitoin veya siklosporin kullanımı,
- 5) Hamilelik
- 6) Sigara kullanmak.

Sigara içenler; en az son 5 yılda günde 10 veya daha fazla sigara içenler olarak tanımlandı (Canakci ve ark., 2009). Sigara içmeyenler hiç sigara içmeyenler ya da çalışmaya başlamadan önceki son en az 2 yılda sigarayı bırakanlar olarak tanımlandı.

2.1. Periodontal Durumun Değerlendirilmesi

Tüm katılımcılar Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı'nı ilk ziyaretlerinde klinik olarak eğitilmiş ve kalibre tek bir araştırmacı tarafından değerlendirildi. Tüm periodontal değişkenler her diş için, 3. molarlar hariç, altı farklı bölgeden (mesio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mesio-lingual, mid-lingual ve disto-lingual) kaydedildi. Kaydedilen klinik parametreler periodontal cep derinliği (CD), KAK ve sondalamada kanama alanları yüzdesi (SKİ%) idi. Parametreler Williams sondu kullanılarak değerlendirildi ve CD kayıtları yakın olan değere yuvarlandı; 0.5 mm'ye yakın olan değerler düşük olan değere yuvarlandı.

2.2. Tükürük ve Serum Örneklerinin Toplanması

Bir gece açlıktan sonra sabah tükürük örnekleri alındı. Hastalardan ağızlarını distile suyla çalkalamaları istenildi. Uyarılmamış tükürük, standart teknikler kullanılarak toplandı (Lamster ve ark., 2003). Yaklaşık 2 ml'lik tükürük tek kullanımlık polipropilen tüplerde toplandı ve hücresel elemanları uzaklaştırmak amacıyla hemen santrifüj edildi (1000 g x 10 dk). Kan örnekleri antekubital venden katkısız kırmızı kapaklı tüplere alındı, 30 dakika (oda sıcaklığında) bekletildi ve serum santrifüj ile hazırlandı (4000 g x 10 dk). Tükürük ve serum örnekleri analize kadar -80 ° C'de saklandı.

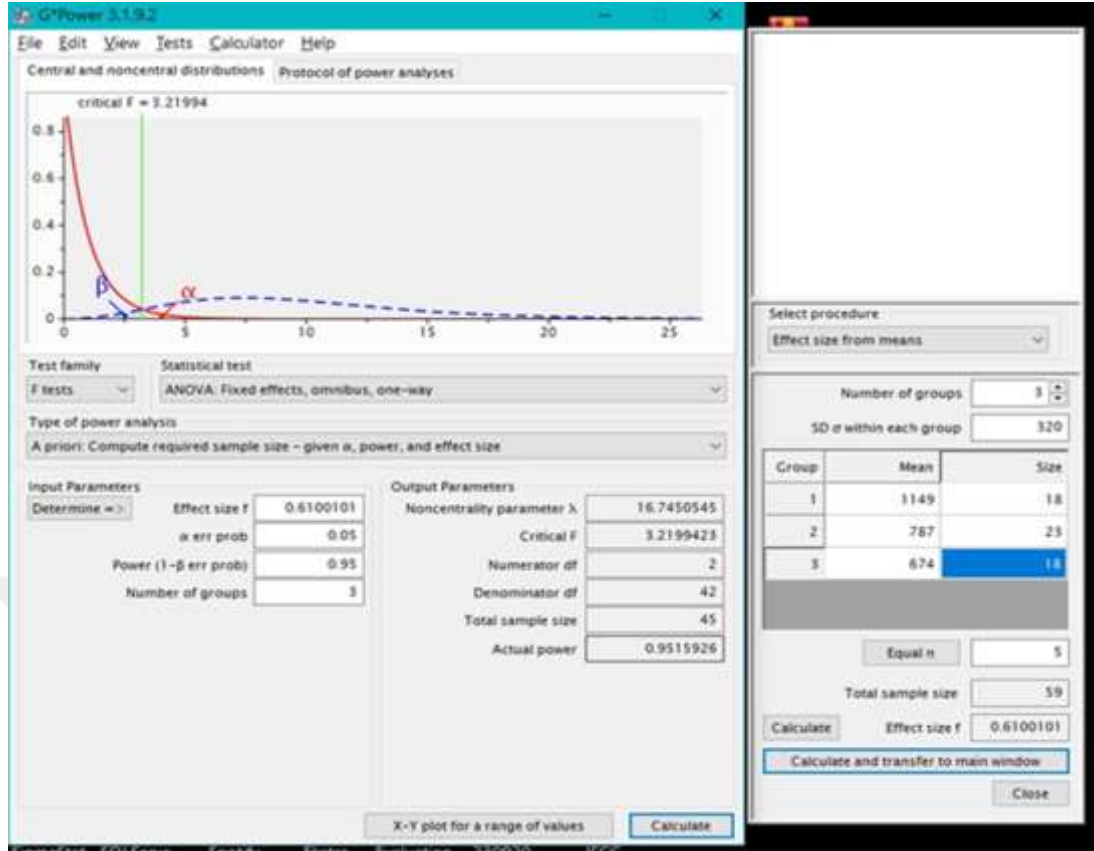
2.3. Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi

Tükürük ve serum 8-OHdG seviyeleri, ticari olarak temin edilebilen ELISA kitleri (Human 8-OHdG (8-Hydroxydeoxyguanosine) ELISA Kiti, Elabscience Inc., Houston, Texas, USA) belirlendi. Ölçümler üretici firmanın talimatlarına göre yapıldı. Renk değişimi microplate okuyucu 2 tarafından 450 nm'de ölçüldü. Konsantrasyonlar, ilgili test standart eğrisine göre belirlendi. Tüm örnekler çift olarak çalışıldı ve değerlerin ortalaması alındı.

MMP-8'in kantitatif tespiti için ELISA yöntemi kullanılmıştır (Human MMP-8 (Matrix Metalloproteinaz-8) ELISA Kiti, Elabscience Inc., Houston, Texas, USA). Örnekler, kontroller ve standartlar monoklonal bir antikor ile önceden kaplanmış kuyucuklara pipetlendi. Bir yıkama adımının ardından, kuyulara bir substrat eklendi. Başka bir yıkama adımından sonra, her ölçüme spesifik enzime bağlı monoklonal antikor kuyulara eklendi. İnkübasyon ve bağlanmamış enzimi uzaklaştırmak amacıyla yıkama sonrasında, bir substrat solüsyonu renkli bir reaksiyon ürünü oluşturmak amacıyla eklendi. Bu renkli ürünün yoğunluğu örneklerdeki hedef protein oranı ile direkt olarak ilişkilidir.

2.4. İstatistiksel Analizler

Periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı olmak üzere iki grubun MMP-8 ve 8-OHdG değişkenleri karşılaştırılmıştır. Birincil karşılaştırma değişkeni olan MMP-8 için örneklem büyüklüğü hesaplanmıştır (Şekil 2.1.). Buradan Tek yönlü Varyans Analizi için etki genişliği 0.61, %95 güç ve %5 alfa alındığında örneklem büyüklüğü en az her bir grupta 15'şer olmak üzere toplam 45 kişi hesaplanmıştır. Hesaplamalar G*Power 3.0.10 programında yapılmıştır. Her grup için veri kaybı göz önüne alındığında grupların 20'şer kişi olması planlanmıştır.



Şekil 2.1. Örneklem büyüklüğünü belirlemek için tek yönlü varyans analizi

İstatistiksel analizler SPSS for Windows R4 programıyla yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirilirken normal dağılım olup olmadığını anlamak için Shapiro wilk testi yapılmıştır. Kategorik değişkenler için ki-kare testi uygulanmıştır. İki grup arasında bağımsız gruplar için t testi kullanılmıştır.

Çalışmadaki değişkenleri 3 grup arasında karşılaştırmak için “tek yönlü ANOVA testi” çoklu karşılaştırma testi olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. Değişkenler normal dağılmadığında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

8-OHdG, MMP-8 ve periodontal klinik parametreler arasındaki korelasyonlar Pearson korelasyonu ve çoklu lojistik regresyon analizi kullanılarak yapıldı. Sağlıklı bireylerden periodontitisin ayrıştırılması için ROC analizi ve tükürük biyobelirteçleri için eğri altındaki alan (AUC) analizleri yapıldı. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Çalışma Popülasyonu

20 kronik periodontitisli hasta (KP grubu; ortalama $\pm$ SS yaş= $37,35 \pm 11,97$; 12 kadın), 20 agresif periodontitisli hasta (AgP grubu; $28,90 \pm 5,36$; 13 kadın) ve 20 periodontal olarak sağlıklı birey (K grubu; $30,75 \pm 8,82$ yaş; 14 kadın) çalışmaya dahil edildi ve katılımcılar tüm çalışma prosedürlerini tamamladı.

Tüm gruplar için demografik ve periodontal klinik değerlendirmelerin sonuçları Tablo 3.1.'de verilmiştir. Cinsiyet açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). Yaş, KP grubunda AgP ve K gruplarına göre anlamlı olarak yüksekti ($p = 0,015$). Agresif periodontitis ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark yoktu. Tablo 1’de gösterildiği gibi tüm gruplar arasında CD, SKİ ve KAK değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p < 0,001$).

Çizelge 3.1. Demografik, klinik periodontal ve biyokimyasal parametreler

Parametreler	Agresif Periodontitis (AgP) n=20	Kronik Periodontitis (KP) n=20	Kontrol (K) n=20
Yaş (yıl)	$28,90 \pm 5,36$	$37,35 \pm 11,97^{\#}$	$30,75 \pm 8,82$
Cinsiyet (k/e)	13/7	12/8	14/6
CD (mm)	$5,56 \pm 0,89$	$4,466 \pm 1,00$	$1,547 \pm 0,16^*$
SKİ (%)	$92,54 \pm 14,79$	$62,535 \pm 30,47$	$5,3 \pm 5,05^*$
KAK (mm)	$6,06 \pm 1,03$	$4,824 \pm 0,98$	$0,026 \pm 0,05^*$
Tükürük MMP-8 ng/mL	$0,36 \pm 0,15^{**}$	$0,25 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,04$
Serum MMP-8 ng/mL	$8,29 \pm 2,56$	$9,347 \pm 2,78$	$8,616 \pm 3,38$
Tükürük 8-OHdG ng/mL	$21,4 (11,92-31,64)^{\Delta}$	$17,95 (8,03-37,61)^{\Delta}$	$2,88 (1,80-6,33)$
Serum 8-OHdG ng/mL	$115,66 \pm 40,19$	$95,258 \pm 44,05$	$117,916 \pm 35,91$

[#] AgP ve KP grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p < 0,05$).

^{*} Tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p < 0,001$).

^{**} KP ve K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p < 0,05$).

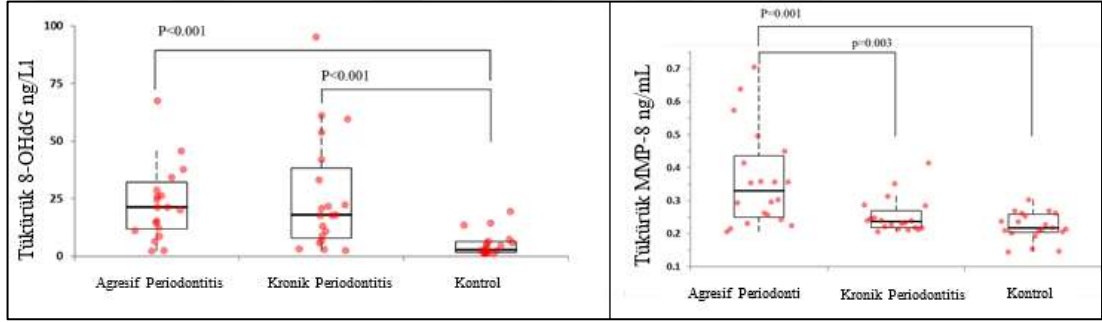
^Δ Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ($p < 0,001$).

Veriler ortalama $\pm$ SS olarak verilmiştir.

3.2. Biyokimyasal Parametreler

Tükürük 8-OHdG seviyeleri AgP ve KP gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (her ikisi grup için de $p < 0.001$) (Şekil 3.1.). Periodontitis grupları arasında anlamlı fark yoktu. Serum 8-OHdG seviyelerinde gruplar arası farklılık yoktu (Şekil 3.1.).

Tükürük MMP-8 seviyeleri, AgP grubunda KP ve K grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla $p = 0.003$, $p = 0.001$). Serum MMP-8 seviyelerinde gruplar arasında fark yoktu (Şekil 3.1.).



Kronik periodontitis (n=20), agresif periodontitis (n=20) ve kontrol (n=20) gruplarında tükürük 8-OHdG ve MMP-8 düzeyleri. 8-OHdG: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin; MMP-8: matris metalloproteinaz-8. ANOVA testi ve posthoc analizi (Bonferroni testi yapıldı).

Şekil 3.1. Biyokimyasal parametrelerin gruplar arası karşılaştırması

3.3. Biyokimyasal ve Klinik Periodontal Parametreler Arasındaki Korelasyonlar

Çizelge 3.2'de belirtilen bu analizler, 60 hastanın tümünden elde edilen verilere dayanmaktadır. Klinik periodontal parametrelerden CD, SKİ ve KAK ile tükürük biyokimyasal parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyonlar bulunmuştur.

Tükürük 8-OHdG seviyesi, CD ($r = 0,298$), KAK ($r = 0,309$) ve BOP ile pozitif korelasyon göstermiş ($r = 0.323$), her ikisi için de $p < 0.05$ olarak bulunmuştur.

Tükürük MMP-8 ise ayrıca CD ($r = 0.503$), KAK ($r = 0.473$) ve BOP ($r = 0.534$) ile kuvvetli korelasyon göstermiştir ($p < 0.001$).

Çizelge 3.2. Biyobelirteçler ve klinik periodontal parametreler arasındaki korelasyonlar

Parametreler	Tükürük 8-OHdG	Serum 8-OHdG	Tükürük MMP-8	Serum MMP-8
Tükürük 8-OHdG	-	-	-	-
Serum 8-OHdG	-0.067	-	-	-
Tükürük MMP-8	0.309	-0.039	-	-
Serum MMP-8	0.033	-0.179	-0.221	-
Yaş (yıl)	0.024	-0.088	-0.203	0.015
CD (mm)	0.298*	-0.071	0.503**	0.001
KAK (mm)	0.309*	-0.039	0.473**	-0.006
SKİ (%)	0.323*	-0.036	0.534**	0.034

* $p < 0.05$; ** $p < 0.001$
8-OHdG: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; MMP-8: matrix metalloproteinaz-8
SKİ: sondalamada kanama indeksi; KAK: klinik ataçman kaybı; CD: cep derinliği
Pearson's r korelasyon katsayıları

3.4. ROC Analizi

Çoklu regresyon analizinin sonuçları (Nagelkerker $R^2 = 0.672$; $p < 0.001$) Tablo 3'te sunulmuştur. Çizelge 3.3.'te tüm tükürük biyokimyasal belirteçlerin istatistiksel olarak anlamlı şekilde birer bağımsız periodontitis belirleyicisi oldukları gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Çoklu lojistik regresyon analiz sonuçları

Değişken	Katsayı	Standart Hata	Wald	P	Odds ratio	95% CI
Tükürük 8-OHdG	0.18002	0.066005	7.4384	0.0064	1.1972	1.0520 to 1.3626
Serum 8-OHdG	-0.015778	0.013596	1.3466	0.2459	0.9843	0.9585 to 1.0109
Tükürük MMP-8	24.77692	10.17048	5.9349	0.0148	5.76E+10	126.8222 to 26.1676E+018
Serum MMP-8	0.16745	0.15769	1.1276	0.2883	1.1823	0.8680 to 1.6105
Sabit	-7.25979	3.05451	5.6489	0.0175		

Tükürük biyobelirteçleri için ROC analizleri sınır değeri, duyarlılık, özgüllük ve AUC ile birlikte Çizelge 3.4 ve Şekil 3.2.'de gösterilmiştir.

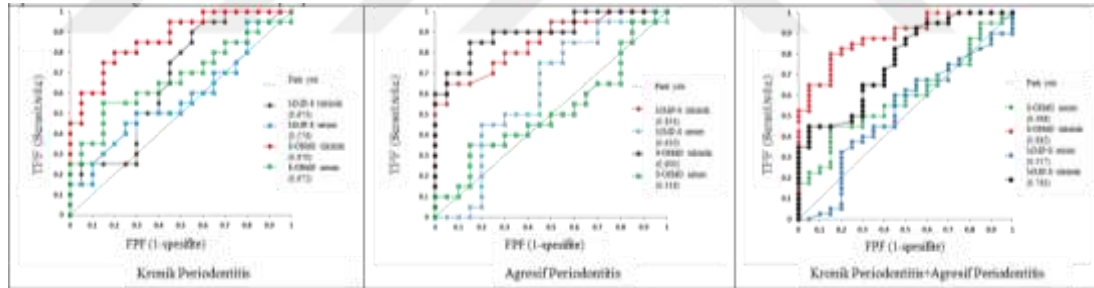
Çizelge 3.4. Kronik ve agresif periodontitiste tükürük ve serum 8-OHdG ve MMP-8 biyobelirteçlerinin tek tek ve kombine tanısal etkinliği

Chronic Periodontitis	Sınır Değer	AUC	AUC (95%)	TP oranı (Sensitivite)	TN oranı (Specificite)	Olasılık Oranı
Tükürük 8-OHdG	7.53	0.870	0.76 to 0.98	0.75	0.85	17.00
Tükürük MMP-8	0.21	0.673	0.50 to 0.85	0.95	0.40	12.67
Serum 8-OHdG	89.55	0.675	0.50 to 0.85	0.55	0.85	6.93
Serum MMP-8	10.25	0.576	0.39 to 0.76	0.45	0.75	2.46
Tükürük 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu		0.890	0.79 to 0.99	0.65	1.00	4.00
Serum 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu		0.685	0.52 to 0.85	0.45	0.90	7.36
Tükürük ve serum 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu		0.890	0.79 to 0.993	0.65	1.00	4.00

Aggressive Periodontitis	Sınır Değer	AUC	AUC (95%)	TP oranı (Sensitivite)	TN oranı (Specificite)	Olasılık Oranı
Tükürük 8-OHdG	7.53	0.900	0.80 to 1.00	0.85	0.85	32.11
Tükürük MMP-8	0.27	0.854	0.74 to 0.97	0.65	0.95	35.29
Serum 8-OHdG	89.55	0.516	0.33 to 0.70	0.35	0.85	3.05
Serum MMP-8	10.20	0.610	0.42 to 0.80	0.85	0.45	4.64
Tükürük 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu		0.955	0.89 to 1.02	0.90	1.00	4.00
Serum 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu		0.563	0.38 to 0.75	1.00	0.25	4.00
Tükürük ve serum 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu		0.890	0.79 to 0.99	0.65	1.00	4.00

Chronic and Aggressive Periodontitis	Sınır Değer	AUC	AUC (95%)	TP oranı (Sensitivite)	TN oranı (Specificite)	Olasılık Oranı
Tükürük 8-OHdG	7.53	0.885	0.80 to 0.97	0.80	0.85	22.67
Tükürük MMP-8	0.27	0.763	0.64 to 0.89	0.45	0.95	15.55
Serum 8-OHdG	89.55	0.596	0.45 to 0.74	0.45	0.85	4.64
Serum MMP-8	10.20	0.517	0.36 to 0.68	0.60	0.55	1.83
Tükürük 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu		0.916	0.85 to 0.99	0.78	1.00	4.00
Serum 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu		0.596	0.45 to 0.74	0.40	0.85	4.00
Tükürük ve serum 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu		0.916	0.85 to 0.99	0.78	0.95	65.44

AUC: Eğri altında kalan alan, TP: Gerçek pozitif, TN: Gerçek negatif, tükürük biyobelirteçleri için ROC analizi



Periodontitis taraması için test edilen tükürük biyokimyasal belirteçlerin karakteristik eğrileri. 8-OHdG: 8-hidroksi-2'-deoksiganosin; MMP-8: Matris metalloprotein-8. AUC: eğri altında kalan alan.

Şekil 3.2. ROC eğrisi analizlerinin karşılaştırılması

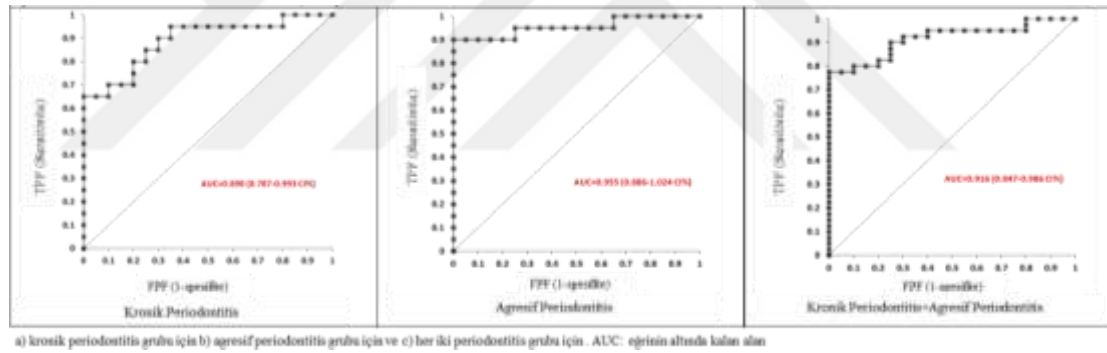
Tükürük 8-OHdG, kronik periodontitis ve kontrol hastaları arasında ayırma yapmada en uygun biyobelirteçtir (duyarlılık = 0,75, özgüllük = 0,85, sınır değer 7,53 ng / ml, AUC = 0,87).

Agresif periodontitis hastalarında agresif periodontitisi kontrollerden ayırmada en uygun belirteç tükürük 8-OHdG ve MMP-8 idi (8-OHdG: duyarlılık = 0,85,

özgüllük = 0,85, sınır değeri 7,53 ng / ml, AUC = 0,90; MMP-8: duyarlılık = 0,65, özgüllük = 0,95, sınır değeri 0,27 ng / ml, AUC = 0,85).

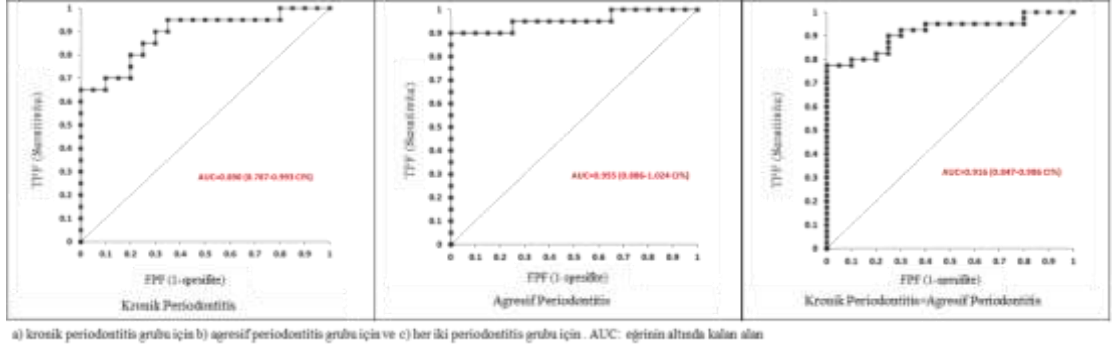
Tüm periodontitis hastalarını aynı grupta topladığımızda tükürük 8-OHdG seviyesi periodontitis ve kontrol hastaları arasında ayrım yapmada en doğru biyobelirteçdir (duyarlılık = 0,80, özgüllük = 0,85, sınır değeri 7,53 ng / ml, AUC = 0,89).

Biyobelirteçlerin kombinasyonları tek biyobelirteçle kıyaslandığında periodontitis tahmini açısından daha etkili olabilir. Kombinasyon değerlere bakıldığında tükürük MMP-8 ve 8-OHdG kombinasyonu KP grubu için (AUC = 0.890), AgP grubu için (AUC = 0.955), ve tüm periodontitis hastalarını kontrollerden ayırmak için (AUC = 0.916) en iyi değerlere sahiptir (Çizelge 3.4., Şekil 3.4).



Şekil 3.3. Tükürük MMP-8 ve 8-OHdG kombinasyonu için ROC analizi

Serum kombinasyonları hiçbir grup için hastalığı kontrollerden ayırıcı bir değere sahip değildir (Çizelge 3.4., Şekil 3.5.).



Şekil 3.4. Tükürük MMP-8 ve 8-OHdG kombinasyonu için ROC analizi

Tüm parametrelerin kombinasyonu kronik periodontitis ve tüm periodontitis hastaları için 0.890 AUC değerleri ile tükürük parametreleri kombinasyonu ile aynı değere sahiptir. Tüm parametrelerin kombinasyonu AgP hastalarını kontrollerden ayırmada tükürük parametreleri kombinasyonu kadar etkili bulunmamıştır (AUC = 0.890).

4. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, agresif ve kronik periodontitis hastaları ile periodontal açıdan sağlıklı bireylerde tükürük ve serum oksidatif stres (8-OHdG) ve enflamasyon (MMP-8) belirteç düzeylerini değerlendirmek, yanı sıra periodontal klinik parametreler ve bu biyobelirteç seviyeleri arasındaki olası ilişkileri açıklamaktır. Tükürük 8-OHdG seviyeleri, agresif ve kronik olarak ayırt etmeksizin tüm periodontitis hastalarında kontrollere göre belirgin ölçüde yüksek bulunmuştur (her ikisi için $p < 0.001$). Tükürük MMP-8 seviyeleri, AgP grubunda KP ve C gruplarına göre anlamlı olarak yükselmiştir (sırasıyla $p = 0,003$, $p = 0,001$). Sonuçlar ayrıca periodontal enflamasyon ve doku yıkımının klinik belirteçleri olan CD, SKI ve KAK değerlerinin hem tükürük 8-OHdG hem de MMP-8 ile pozitif korelasyona sahip olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda periodontal hastalık durumunda oksidatif stresin varlığı gösterilmiştir (AAP, 1999; Takane ve ark., 2002; Waddington ve ark., 2000; Chapple, 1997). Periodontal hastalıklarda ROT, mitokondriye doğrudan giren oksijenin solunum zinciri içinden geçişinde elektronların sızması yüzünden rastlantısal olarak veya fagositler tarafından oksijen radikallerin üretimi vasıtasıyla fonksiyonel olarak artmaktadır (Fridovich, 1989; Imlay, 1991). ROT, doku yaralanmasında doğrudan veya dolaylı bir role sahip olmasına rağmen bu rolü sıklıkla dolaylı olarak ortaya çıkmaktadır (Chapple ve Matthews, 2007). ROT yarılanma ömrü oldukça kısadır (10^{-6} - 10^{-9} saniye), dolayısıyla varlıklarının saptanması zordur. ROT kaynaklı doku hasarının ölçülmesi lipid peroksidasyon son ürünlerinden malondialdehit (MDA), 4-hidroksinoneal (HNE) veya DNA hasarı parametrelerinden 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) gibi final ürünlerinin tespitiyle mümkündür.

DNA komponentleri arasında guanin en az iyonizasyon potansiyeli olan ve baz oksidasyonuna en yatkın olan bazdır (Dizdaroğlu ve ark., 1999; McDorman ve ark.,

2005). DNA hasarının hassas bir belirteci olan modifiye 8-OHdG bazı 20'den fazla oksidatif bazdan biridir ve ilk olarak Kasai ve Nishimura tarafından rapor edilmiştir. 8-OHdG sıklıkla ölçülen bir parametredir ve DNA hasarının hassas bir parametresidir (Dizdaroğlu ve ark., 1999, 1998; Valavanidis ve ark., 2009). 8-OHdG, baz hasarı ürünleri arasında en çok bilinenidir (De Martinis ve ark., 2002). Bundan dolayı, 8-OHdG ölçümü oksidatif DNA hasarının direkt indikatörü olarak görülmekte ve oksidatif DNA hasarı ölçümlerinde en yaygın metot olarak kullanılmaktadır (Helbock ve ark., 1999).

8-OHdG tükürük değerleri; AgP grubunda 21.4 (11.92-31.64), KP grubunda 17.95 (8.03-37.61) ve K grubunda 2.88 (1.80-6.33) ng/mL'dir. Periodontitisli gruplarda 8-OHdG tükürük değerleri periodontal açıdan sağlıklı gruba göre yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar birçok çalışma ile benzer olarak periodontal hastalığın oksidatif stresi arttırdığı hipotezini desteklemektedir. (Sawamoto ve ark., 2005; Takane ve ark., 2005; Takane ve ark., 2002; Çanakçı ve ark., 2009). Sawamoto ve ark. tarafından (2005) yapılan bir çalışmada 20 sistemik olarak sağlıklı periodontitisli ve 20 sistemik olarak sağlıklı bireyin tükürük örneklerinde ELISA ile 8-OHdG değerleri incelenmiştir. Periodontitisli grupta sağlıklı gruba göre 8-OHdG seviyesi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Takane ve ark. tarafından (2005) yapılan bir çalışmada umutsuz prognoza sahip 17 ve sahip olmayan 17 toplam 34 periodontitis hastasının tükürük ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) örneklerinde 8-OHdG seviyeleri ELISA ile incelenmiştir. Tükürük 8-OHdG seviyesi periodontal olarak umutsuz dişlere sahip olan grupta diğer gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Takane ve ark. (2002) kronik periodontitisli hastalarda başlangıç periodontal tedavisi sonrası 8-OHdG seviyesinde anlamlı bir düşüş izlendiğini rapor etmiştir. Çanakçı ve ark. tarafından (2009) yapılan bir çalışmada 30 kronik periodontitisli ve 30 sağlıklı bireyin tükürük örneklerinde 8-OHdG seviyesi ELISA ile incelenmiştir. Periodontitis hastalarında kontrol grubuna göre yüksek 8-OHdG seviyeleri tespit edilmiştir. Altıngöz ve ark.'larının 2020'de yayınladıkları çalışmada diyabetli ve sistemik olarak sağlıklı bireylerde periodontal durum kıyaslanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre sistemik olarak sağlıklı periodontitisli bireyler periodontitisi olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek 8-OHdG seviyeleri göstermiştir. Önder ve ark.'larının 25

kronik periodontitis ve 26 periodontal olarak sağlıklı bireyde yaptıkları çalışmada tükürük 8-OHdG seviyeleri periodontitis grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuş ve cerrahi olmayan periodotal tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüş göstermiştir. Kurgan ve ark.'larının 2015'te yayınladıkları metot çalışmasında 8-OHdG seviyeleri periodontitisli ve sağlıklı bireylerde hem ELISA hem de LC-MS/MS (kütle spektrometresi) metodu ile kıyaslanmış her iki metot ile de periodontitisli grup sağlıklılara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksek değerler göstermiştir. Perez ve ark.'ları 2005'te agresif periodontitisli ve kronik periodontitisli bireyleri kontrol grubu ile kıyasladıkları çalışmalarında her iki periodontitis grubunda da 8-OHdG seviyelerini kontrole göre yüksek bulmuşlardır. En yüksek değerler agresif periodontitis grubunda gözlenmiştir ve bu değer kronik periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da AgP grubunda 8-OHdG değerleri bu çalışma ile benzer olarak en yüksek değere sahiptir ancak iki periodontitis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

8-OHdG serum değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Serum 8-OHdG limitasyonu olan bir parametredir. Uyguladığımız metot DNA düzeyinde ölçüm yapan bir metot değildir, yani ELISA ölçümü nötrofil üzerinden yapılmamıştır. Farklı 8-OHdG seviyeleri bulunması metodolojik limitasyondan kaynaklanmış olabilir. Bizim sonuçlarımıza göre; 8-OHdG serum seviyesi ne agresif ve ne de kronik periodontal hastalığın oksidatif stres üzerine etkisini değerlendirmede etkin bir parametre değildir. Bu sonuçlar literatürdeki çalışmalar ile uyumludur (Altıngöz ve ark., 2020; Önder ve ark., 2016; Hendek ve ark., 2015).

MMP-8 tükürük değerleri; AgP grubunda 0.36 ± 0.15 , KP grubunda 0.25 ± 0.05 ve K grubunda 0.22 ± 0.04 ng/mL'dir. MMP'ler latent veya aktif formlarda var olabilir, ancak aktif form progresif periodontal hastalıkla daha yakından ilişkilirken, latent formun tek başına gingival inflamasyonla daha güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Sorsa ve ark., 2004) Bizim sonuçlarımız değerlendirildiğinde her iki periodontitisli grup kontrol grubuna göre daha yüksek MMP-8 seviyesine sahip olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark sadece AgP grubunda gözlenmiştir.

Çeşitli çalışmalar, periodontitis şiddeti ve seyri ile ilişkili olarak MMP-8 seviyelerinin arttığını göstermiştir (Sorsa ve ark., 2010; Sorsa ve ark., 2011; Salminen ve ark., 2014). Bu çalışmanın sonuçları da benzer olarak MMP-8 seviyelerinin periodontal klinik parametrelerle, dolayısıyla hastalık şiddeti ile, oldukça yüksek anlamlı bir ilişkide olduğunu göstermektedir. Artmış cep derinliği, klinik ataçman kaybı ve sondalamada kanama değerlerindeki artış MMP-8 seviyelerini de önemli ölçüde arttırmaktadır. Kraft ve ark.'ları (2012), artan ortalama cep derinliği ile MMP-8 konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir. Sorsa ve ark.'ları (2006) MMP'lerin (özellikle MMP-8, -9 ve -13) yıkıcı periodontal hastalıkta rol oynadığını ve MMP-8 veya nötrofil kolajenazın dişeti dokusunu, DOS'u, tükürüğü etkileyen başlıca interstisyel kolajenaz olduğunu göstermiştir. Herr ve ark.'ları (2007) MMP-8 seviyelerinin periodontal hastalığı olan bireylerden alınan tükürükte yüksek olduğunu göstermiştir. Tonetti ve ark.'ları (1993), MMP-3 ve MMP-8 transkriptlerinin sağlıklı bölgelerde tespit edilemediğini, ancak periodontitis bölgelerinde spesifik olarak tespit edilebileceğini göstermiştir. Miller ve ark.'ları (2006), hücre dışı kolajen matriks degradasyonunda anahtar bir enzim olan MMP-8'in, periodontal hastalığın akut evrelerinde ağırlıklı olarak PMN'lerden üretildiğini ve periodontal parametrelerle iyi korelasyon gösterdiğini ve MMP-8 varlığının periodontal hastalık riskini önemli ölçüde arttırdığını belirtmişlerdir. Kuula ve ark.'ları (2009) MMP-8'in gingival doku ve oral sıvılarda majör kolajenolitik MMP olduğu ve bu enzimin yüksek seviyelerinin periodontal inflamasyon ve hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğunu; bazal fizyolojik seviyelerin doku homeostazı ile ilişkili olabileceğini ve hatta hastalıklara karşı koruma görevi görebileceğini bildirmişlerdir.

Literatürde agresif periodontitis ve kronik periodontiti kıyaslayan çok az sayıda çalışma mevcuttur. Sonuçlarımız Alfant ve ark.'larının 2008'de çocuklarda yaptıkları çalışmanın sonuçları ile uyumludur. Bu çalışmada da, AgP grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek MMP-8 değerleri gözlenirken, kontrol ve KP grupları arasında fark izlenmemiştir. Yazarlar bunun sebebinin KP'in epizodik doğasına bağlamışlardır. KP ile ilişkili hastalık aktivitesinin epizodik doğası nedeniyle, örneklenen KP bölgelerinin çoğunun remisyonunda olmasının muhtemel olabileceği ve

sıklıkla aktif bir hastalık durumunu yansıtan AgP grubunun değerlerinin bu nedenle yüksek olabileceği belirtilmiştir.

MMP-8, periodontitisin neden olduğu geri dönüşümsüz doku yıkımının ana mediatorlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Sorsa ve ark., 2004; Sorsa ve ark., 2006). Nötrofiller, MMP-8'in başlıca hücresel kaynaklarıdır ve enflamatuvar periodontal hastalıklarda dokuya büyük miktarda ve kalıcı bir nötrofil akışı hastalığın özelliğidir. Ayrıca, mikrobiyal diş plağında bulunan spesifik bakteriyel proteinazlar PMN-tipi MMP-8'i aktive edebilir (Sorsa ve ark., 2004). Ek olarak, periodonsiyumda bulunan birkaç PMN-tipi olmayan hücre tarafından MMP-8 ekspresyonu, interlökin-1beta (IL-1 β) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinler tarafından indüklenebilir (Hanemaaijer ve ark., 1997; Cole ve ark., 1996). Çalışmamızda, AgP'li grubun KP'den anlamlı daha yüksek MMP-8 değerlerine sahip olması, agresif periodontal hastalık ile ilişkili hiperenflamatuvar cevabın bir sonucu olabilir. Nötrofillerden aşırı PMN-tipi MMP-8 salınmış olması AgP ve KP grupları arasındaki farkı yaratmış olabilir.

MMP-8 serum değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Literatür incelendiğinde serum MMP-8 seviyesi hakkında fikir birliği yoktur. Bazı çalışmalar bizim sonuçlarımız gibi bir sistemik etki gösterememişken (Ozcaka ve ark., 2011; Nizam ve ark., 2014) bazı çalışmalar periodontal hastalıkta artmış serum MMP-8 seviyeleri göstermişlerdir (Marcaccini ve ark., 2009; Wick ve ark., 2013; Noack ve ark., 2017). Çalışmalarda belirlenen dolaşımdaki MMP-8 konsantrasyonları, sigara, sistemik durum veya yaş gibi diğer faktörlerden etkilenmiş olabilir (Lauhio ve ark., 2016). Karıştırıcı faktörlere ilişkin çalışma popülasyonlarındaki farklılıklar, rapor edilen verilerdeki tutarsızlığı açıklayabilir.

Çalışmamızdaki ROC analizi sonuçları incelendiğinde, tükürük 8-OHdG seviyelerinin hem kronik periodontitis hem de agresif periodontitis hastalarını sağlıklı bireylerden ayırt etmede en doğru biyobelirteç olabileceği belirlenmiştir (KP için AUC = 0.870; AgP için AUC = 0.900; tüm periodontitisli bireyler için AUC = 0.885).

Agresif periodontitisi sağlıklı bireylerden ayırmak için MMP-8 iyi bir belirteç olarak belirlenmiştir (AUC = 0.854). Sonuçlar ayrıca, tükürük 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonun, her üç grup için de periodontitis hastaları ile sağlıklı bireyler arasında ayırım yapmada en doğru kombinasyon olduğunu göstermektedir (KP için AUC = 0.890; AgP için AUC = 0.955; tüm periodontitisli bireyler için AUC = 0.916).

Altıngöz ve ark.'ları, 2020'de yayınladıkları çalışmalarında tükürük 8-OHdG'nin diyabetik bireylerde tek başına veya 4-HNE, AGE ve RAGE ile kombinasyon halinde; sistemik olarak sağlıklı kişiler için ise tek başına veya MDA ve hsCRP ile kombinasyon halinde potansiyel olarak periodontitisin invaziv olmayan tarama belirteci olarak işlev görebileceğini bildirmişlerdir.

Sorsa ve ark.'ları 2016 yılında yaptıkları derlemede MMP-8'in, epizodik periodontitis ve peri-implantitisin progresif fazlarını tahmin etmek, teşhis etmek ve belirlemek için oral sıvılarda (dişeti oluğu sıvısı, ağız gargarası ve tükürük) hasta başı teşhisi (chair-side/point-of-care) için umut verici bir aday olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Sorsa ve ark.'ları 2020 yılında yayınladıkları makalede geliştirdikleri hasta başı teşhisi testini 2017 dünya çalıştayında kabul edilen yeni sınıflama için uyarladıklarını ve aktif MMP-8 taramasının muayenelerde periodontitisin seyri ve şiddetini belirlemede kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Rathnayake ve ark.'ları (2013) şiddetli periodontitisli hastaların yüksek MMP-8 tükürük konsantrasyonları sergilediklerini ve MMP-8'in hastalığın belirteci olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. Gürsoy ve ark.'ları (2013), aktif MMP-8'in tükürükte alveolar kemik yıkımını tespit etmek için güçlü bir biyobelirteç adayı olduğunu bildirmiştir.

Çalışmamızın sonuçları ve literatür incelendiğinde MMP-8 ve 8-OHdG'nin periodontal hastalığın seyri ve teşhisinde önemli biyobelirteçler olabileceği, özellikle büyük çaplı saha çalışmalarında kullanımlarının oldukça avantajlı olabileceği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızın sonuçları göstermektedir ki özellikle MMP-8 ve 8-OHdG'nin kombine kullanımı teşhisin doğruluğunu oldukça arttırmaktadır. Bu sonuçlar periodontitisin invaziv olmayan taraması için yeni umutlar sunmaktadır.

Bu çalışmanın kesitsel doğası, temel sınırlamasıdır. Çalışma tasarımı nedeniyle, hastaların seçiminde randomizasyon gerçekleştirilememiştir ve bu da hasta seçim yanlılığına yol açabilir. Çalışmanın diğer sınırlamaları arasında nispeten küçük bir örneklem büyüklüğüne sahip olması yer almaktadır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Hem agresif hem de kronik periodontitis oksidatif stresi arttıran hastalıklardır.
2. MMP-8 özellikle AgP’de belirgin olarak artış göstermektedir.
3. ROC analizleri sonuçları incelendiğinde tükürük MMP-8 ve 8-OHdG’nin kombine kullanımları hastalığın teşhis ve şiddetini belirlemede oldukça etkili gözükmektedir.



ÖZET

Periodontitisli Bireylerin Tükürük ve Serum Örneklerinde 8-OHdG ve MMP-8 Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Tükürük matriks metaloproteinaz (MMP-8), periodontitis için en umut verici biyobelirteçlerden biri olarak kabul edilir. DNA hasarı için oksidatif stresin bir belirtici olan tükürük 8-hidroksi deoksiguanozinin (8-OHdG) seviyeleri, periodontal inflamasyon şiddeti ile ilişkili olabilir. Bu çalışmanın amacı periodontitis hastalarında ve sağlıklı bireylerde tükürük ve serum 8-OHdG ve MMP-8 düzeylerini belirlemek ve hastalık biyobelirteçleri olarak değerlerini değerlendirmektir. 20 kronik periodontitis hastasından (KP grubu; 12 kadın, 8 erkek; 37.3 ± 12.0 yaş), 20 agresif periodontitis hastasından (AgP grubu; 13 kadın, 7 erkek; 28.9 ± 5.4 yaş) ve periodontal olarak sağlıklı 20 kontrol bireyden (K grubu; 14 kadın, 6 erkek; 30.7 ± 8.8 yaş) tükürük ve serum örnekleri toplandı. Örnekler, 8-OHdG ve MMP-8 için analiz edildi. Klinik periodontal parametreler (sondalama cep derinliği, sondalamada kanama, klinik bağlanma seviyesi) kaydedildi. Tükürük 8-OHdG düzeyleri, AgP ve KP gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (her ikisi için $p < 0.001$), hastalık grupları arasında fark yoktu. Tükürük MMP-8 düzeyleri, AgP grubunda KP ve K gruplarına göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla $p = 0.003$ ve $p = 0.001$). Serum 8-OHdG ve MMP-8 seviyeleri gruplar arasında farklılık göstermedi. Klinik periodontal parametreler tükürük biyokimyasal parametreleri ile anlamlı pozitif korelasyonlara sahipti. Tükürük 8-OHdG, KP ve kontroller arasında ayırım yapmada en doğru biyobelirteçti (AUC = 0.87). AgP hastalarında, hem tükürük 8-OHdG hem de tükürük MMP-8, hastaları kontrollerden ayırmada doğru belirteçlerdi (8-OHdG: AUC = 0.90; MMP-8: AUC = 0.85). Tükürük 8-OHdG, periodontitis (KP veya AgP) ve kontroller (AUC = 0.89) arasında ayırım yapmada en doğru biyobelirteçti. Tükürük 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonu, tüm periodontitis ve kontroller arasında ayırım yapmada oldukça doğrudu (AUC = 0.92). Hem 8-OHdG hem de MMP-8'i periodontitis biyobelirteçleri olarak ilk kez araştıran bu çalışmanın sonuçları, tükürük 8-OHdG ve MMP-8 kombinasyonunun potansiyel olarak periodontitis için non-invaziv tarama aracı olarak hizmet edebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: 8-Hidroksi Deoksiguanozin, Matriks Metalloproteinaz-8, Periodontal Hastalık, Tükürük,

SUMMARY

Evaluation of 8-OHdG and MMP-8 Levels in Saliva and Serum Samples of Individuals with Periodontitis

Salivary matrix metalloproteinase (MMP-8) is considered one of the most promising biomarkers for periodontitis. Salivary levels of 8-hydroxy deoxyguanosine (8-OHdG), a marker of oxidative stress for DNA damage, could be linked to periodontal inflammation severity. The aim of this study was to determine the salivary and serum 8-OHdG and MMP-8 levels in periodontitis patients and healthy individuals, and to assess their value as disease biomarkers. Saliva and serum samples were collected from 20 chronic periodontitis patients (CP group; 12 females, 8 males; 37.3 ± 12.0 years old), 20 aggressive periodontitis patients (AgP group; 13 females, 7 males; 28.9 ± 5.4 years old), and 20 periodontally healthy control individuals (C group; 14 females, 6 males; 30.7 ± 8.8 years of age). Samples were analyzed for 8-OHdG and MMP-8. Clinical periodontal parameters (probing pocket depth, bleeding on probing, clinical attachment level) were recorded. Salivary 8-OHdG levels were significantly higher in AgP and CP groups than control group ($p < 0.001$ for both), without differences between disease groups. Salivary MMP-8 levels were significantly higher in AgP group than CP and C groups ($p = 0.003$ and $p = 0.001$, respectively). Serum 8-OHdG and MMP-8 levels did not differ among groups. Clinical periodontal parameters had significantly positive correlations with salivary biochemical parameters. Salivary 8-OHdG was the most accurate biomarker in differentiating between CP and controls (AUC=0.87). In AgP patients, both salivary 8-OHdG and MMP-8 were accurate markers (8-OHdG: AUC=0.90; MMP-8: AUC=0.85) in differentiating patients from controls. Salivary 8-OHdG was the most accurate biomarker in differentiating between periodontitis (either CP or AgP) and controls (AUC=0.89). Salivary 8-OHdG and MMP-8 combination was highly accurate in differentiating between all periodontitis and controls (AUC=0.92). The results of this study, the first to investigate both 8-OHdG and MMP-8 as periodontitis biomarkers, indicate that salivary 8-OHdG and MMP-8 combination could potentially serve as non-invasive screening tool for periodontitis.

Key Words: 8-Hydroxy Deoxyguanosine, Matrix Metalloproteinase-8, Periodontal Disease, Saliva.

KAYNAKLAR

- ALFANT B, SHADDOX LM, TOBLER J, MAGNUSSON I, AUKHIL I, WALKER C. (2008). Matrix metalloproteinase levels in children with aggressive periodontitis. *J Periodontol.*, **79(5)**:819-26. doi: 10.1902/jop.2008.070513.
- AL-TARAWNEH SK, BORDER MB, DIBBLE CF, BENCHARIT S. (2011). Defining salivary biomarkers using mass spectrometry- based proteomics: a systematic review. *OMICS*, **15**: 353–361.
- ALTINGOZ SM, KURGAN S, ONDER C et al. (2020). Salivary and serum oxidative stress biomarkers and advanced glycation end products in periodontitis patients with or without diabetes: A cross-sectional study. *J Periodontol*, Dec 5. doi: 10.1002/JPER.20-0406. Online ahead of print.
- ARMITAGE GC. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology*, **4**: 1–6.
- AVOUAC J, BORDERIE D, EKINDJIAN OG et al. (2010). High DNA oxidative damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol*, **37**:2540–2547.
- BALWANT R, SIMMI K. (2007). Effect of scaling and root planning on salivary 8-OHdG levels in periodontitis. *The Journal of Dental Science*, **5(2)**:1–10.
- BARTOLD PM, VAN DYKE TE. (2013). Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis: unlearning learned concepts. *Periodontol 2000*, **62**:203-217.
- BARTOLD PM, NARAYANAN AS. (2006). Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000*. **40**:29-49.
- BIRKEDAL-HANSEN H. (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res.* **28**:500-510.
- BIRKEDAL-HANSEN H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*.
- BUTLER GS, OVERALL CM. (2013). Matrix metalloproteinase processing of signaling molecules to regulate inflammation. *Periodontol 2000*, **63**: 123–148.
- CANAKCI CF, CICEK Y, YILDIRIM A, SEZER U, CANAKCI V. (2009). Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent*, **3**: 100–106.

- CATON JG, CIANCIO SG, BLIEDEN TM, BRADSHAW M, CROUT RJ, HEFTI AF, MASSARO JM, POLSON AM, THOMAS J, WALKER C. (2001). Subantimicrobial dose doxycycline as an adjunct to scaling and root planing: post-treatment effects. *J Clin Periodontol*, **28**: 782–789.
- CEKICI A, KANTARCI A, HASTURK H, et al. (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, **64**:57-80.
- CHAPPLE IL, MATTHEWS JB. (2007). The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*, **43**:160-232.
- CHAPPLE IL, MATTHEWS JB. (2007). The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*, **43**:160–232.
- CHEN HY, COX SW, ELEY BM, MANTYLA P, RONKA H, SORSA T. Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol 2000*, **27**: 366–369.
- CHENG KC, CAHILL DS, KASAI H, NISHIMURA S. (1992). 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes GfiT and Afic substitutions. *J Biol Chem*, **267**:166–72.
- CHRISTERSSON LA, ALBINI B, ZAMBON JJ, et al. Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. I. Light, immunofluorescence and electron microscopic studies. *J Periodontol*.
- CIANCIO S, ASHLEY R. (1998). Safety and efficacy of subantimicrobial-dose doxycycline therapy in patients with adult periodontitis. *Adv Dent Res*, **12**: 27–31.
- COLE AA, CHUBINSKAYA S, SCHUMACHER B, et al. (1996). Chondrocyte matrix metalloproteinase-8. Human articular chondrocytes express neutrophil collagenase. *Journal of Biological Chemistry*, **271**: 11023–11026
- CROUT RJ, LEE HM, SCHROEDER K, CROUT H, RAMAMURTHY NS, WIENER M, GOLUB LM. (1996). The “Cyclic” regimen of low-dose doxycycline for adult periodontitis: a preliminary study. *J Periodontol*, **67**: 506–514.
- CUEVAS-CORDOBA B, SANTIAGO-GARCIA J. (2014). Saliva: a fluid of study for OMICS. *OMICS*, **18**: 87–97.
- DARVEAU RP, PHAM, TT, LEMLEY K, et al. (2004). *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide contains multiple lipid A species that functionally interact with both toll-like receptors 2 and 4. *Infect Immun*, **72**:5041-5051.
- DING Y, LIEDE K, LEPPA S, INGMAN T, SEPPER R, KONTTINEN YT, SORSA T. (1994). Gingival crevicular fluid and salivary matrix metalloproteinases of heavy smokers as indicators of periodontal health. *Ann N Y Acad Sci*, **732**: 453–455.

- DIXON DR, DARVEAU RP. (2005). Lipopolysaccharide heterogeneity: innate host responses to bacterial modification of lipid A structure. *J Dent Res.*, **84**:584-595.
- EBERSOLE JL, SCHUSTER JL, STEVENS J, DAWSON D 3rd, KRYSCIO RJ, LIN Y, THOMAS MV, MILLER CS. (2013). Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. *J Clin Immunol*, **33**: 271–279.
- EL-SHARKAWY H, ABOELSAAD N, ELIWA M, DARWEESH M, ALSHAHAT M, KANTARCI A, HASTURK H, VAN DYKE TE. (2010). Adjunctive treatment of chronic periodontitis with daily dietary supplementation with omega-3 Fatty acids and low-dose aspirin. *J Periodontol*, **81**: 1635–1643.
- EMINGIL G, ATILLA G, SORSA T, LUOTO H, KIRILMAZ L, BAYLAS H. (2004). The effect of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis. *J Periodontol*, **75**: 106–115.
- EMINGIL G, ATILLA G, SORSA T, TERVAHARTIALA T. (2008). The effect of adjunctive subantimicrobial dose doxycycline therapy on GCF Ematrix metalloproteinase levels in chronic periodontitis. *J Periodontol*, **79**: 469–476.
- EMINGIL G, HAN B, OZDEMIR G, TERVAHARTIALA T, VURAL C, ATILLA G, BAYLAS H, SORSA T. (2012). Effect of azithromycin, as an adjunct to nonsurgical periodontal treatment, on microbiological parameters and gingival crevicular fluid biomarkers in generalized aggressive periodontitis. *J Periodontal Res*, **47**: 729–739.
- ESKAN MA, HAJISHENGALLIS G, KINANE DF. (2007). Differential activation of human gingival epithelial cells and monocytes by *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. *Infect Immun*. **75**:892-898.
- FIVES-TAYLOR P, MEYER D, MINTZ K. Virulence factors of the periodontopathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontol.*, **67**:291-297 1996.
- FRANK RM. (1980). Bacterial penetration in the apical pocket wall of advanced human periodontitis. *J Periodontal Res*. **15**:563-573.
- GANGBAR S, OVERALL CM, MCCULLOCH CA, SODEK J. (1990). Identification of polymorphonuclear leukocyte collagenase and gelatinase activities in mouthrinse samples: correlation with periodontal disease activity in adult and juvenile periodontitis. *J Periodontal Res*, **25**: 257–267.
- GESELL-SALAZAR MG, JEHLICH N, MURR A, DHOPLE VM, HOLT-FRETER B, HAMMER E, VOLKER U, KOCHER T. (2013). Identification of periodontitis associated changes in the proteome of whole human saliva by mass spectrometric analysis. *J Clin Periodontol*, **40**: 825–832.

- GIANNOBILE WV. (2008). Host-response therapeutics for periodontal diseases. *J Periodontol*, **79**: 1592–1600.
- GOLUB LM, LEE HM, RYAN ME, GIANNOBILE WV, PAYNE J, SORSA T. (1998). Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res.*, **12**: 12–26.
- GOLUB LM, LEE HM, STONER JA, SORSA T, REINHARDT RA, WOLFF MS, RYAN ME, NUMMIKOSKI PV, PAYNE JB. (2008). Subantimicrobial-dose doxycycline modulates gingival crevicular fluid biomarkers of periodontitis in postmenopausal osteopenic women. *J Periodontol*, **79**: 1409–1418.
- GOLUB LM, MCNAMARA TF, D'ANGELO G, GREENWALD RA, RAMAMURTHY NS. (1987). A non-antibacterial chemically-modified tetracycline inhibits mammalian collagenase activity. *J Dent Res.*, **66**: 1310–1314.
- GOLUB LM, MCNAMARA TF, RYAN ME, KOHUT B, BLIEDEN T, PAYONK G, SIPOS T, BARON HJ. (2001). Adjunctive treatment with subantimicrobial doses of doxycycline: effects on gingival fluid collagenase activity and attachment loss in adult periodontitis. *J Clin Periodontol*, **28**: 146–156.
- GOLUB LM, RAMAMURTHY NS, MCNAMARA TF. (1991). Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown: new therapeutic implications for an old family of drugs. *Crit Rev Oral Biol Med*, **2**: 297–322.
- GOLUB LM, SUOMALAINEN K, SORSA T. (1992). Host modulation with tetracyclines and their chemically modified analogues. *Curr Opin Dent*, **2**: 80–90.
- GOLUB LM, WOLFF M, LEE HM, MCNAMARA TF, RAMAMURTHY NS, ZAMBON J, CIANCIO S. (1985). Further evidence that tetracyclines inhibit collagenase activity in human crevicular fluid and from other mammalian sources. *J Periodontal Res.*, **20**: 12–23.
- GOLUB LM, S CIANCIO, NS RAMAMURTHY, et al. (1990). Low-dose doxycycline therapy: effect on gingival and crevicular fluid collagenase activity in humans. *J Periodontal Res*. **25**: 321–330.
- GOLUB LM, T SORSA, HM LEE, et al. (1995). Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J Clin Periodontol.*, **22**: 100–109.
- GONCALVES PF, HUANG H, MCANINLEY S, ALFANT B, HARRISON P, AUKHIL I, WALKER C, SHADDOX LM. (2013). Periodontal treatment reduces matrix metalloproteinase levels in localized aggressive periodontitis. *J Periodontol*, **84**: 1801–1808.

- GUPTA N, GUPTA ND, GUPTA A, KHAN S, BANSAL N. (2015). Role of salivary matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in chronic periodontitis diagnosis. *Front Med.*, **9(1)**:72-6. doi: 10.1007/s11684-014-0347-x.
- GURSOY UK, KONONEN E, PRADHAN-PALIKHE P, TERVAHARTIALA T, PUSSINEN PJ, SUOMINEN-TAIPALE L, SORSA T. (2010). Salivary matrix metalloproteinase-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*, **37**: 487–493.
- GURSOY UK, KÖNÖNEN E, HUUMONEN S, TERVAHARTIALA T, PUSSINEN PJ, SUOMINEN AL, SORSA T. (2013). Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. *J Clin Periodontol*, **40(1)**: 18–25
- HAJISHENGALLIS G, MA SHAKHATREH, WANG M, et al. (2007). Complement receptor 3 blockade promotes IL-12-mediated clearance of *Porphyromonas gingivalis* and negates its virulence in vivo. *J Immunol.* **179**:2359-2367
- HALLIWELL B, GUTTERIDGE JM (editors). (1989). Free radicals in biology and medicine. Oxford, UK: Oxford University Press.
- HALLIWELL B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.*, **91(Suppl. 3C)**: 14S–22S.
- HANEMAAIJER R, SORSA T, KONTTINEN YT, et al. (1997). Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor-alpha and doxycycline. *Journal of Biological Chemistry*, **272**: 31504–31509.
- HANNAS AR, PEREIRA JC, GRANJEIRO JM, et al.: The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand.* **65**:1-13 2007
- HERNANDEZ M, DUTZAN N, GARCIA-SESNICH J, ABUSLEME L, DEZEREGA A, SILVA N, GONZALEZ FE, VERNAL R, SORSA T, GAMONAL J. (2011). Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *J Dent Res.*, **90**: 1164–1170. (1)
- HERNANDEZ M, GAMONAL J, SALO T, TERVAHARTIALA T, HUKKANEN M, TJADERHANE L, SORSA T. (2011). Reduced expression of lipopolysaccharide-induced CXC chemokine in *Porphyromonas gingivalis*-induced experimental periodontitis in matrix metalloproteinase-8 null mice. *J Periodontal Res.*, **46**: 58–66. (2)
- HERNANDEZ M, MARTINEZ B, TEJERINA JM, VALENZUELA MA, GAMONAL J. (2007). Matrix metalloproteinase-13 and TIMP-1 determinations in progressive chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, **34**: 729–735.
- HERR AE, HATCH AV, GIANNOBILE WV, THROCKMORTON DJ, TRAN HM, BRENNAN JS, SINGH AK. (2007). Integrated microfluidic platform for oral diagnostics. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **1098**: 362–374.

- HERR AE, HATCH AV, THROCKMORTON DJ, TRAN HM, BRENNAN JS, GIANNOBILE WV, SINGH AK. (2007). Microfluidic immunoassays as rapid saliva-based clinical diagnostics. *Proc Natl Acad Sci USA*, **104**(13): 5268–5273
- HILLMANN G, DOGAN S, GEURTSSEN W. (1998). Histopathological investigation of gingival tissue from patients with rapidly progressive periodontitis. *J Periodontol.*, **69**:195-208 .
- HOLMSTRUP P, DAMGAARD C, OLSEN I, KLINGE B, FLYVBJERG A, NIELSEN CH, HANSEN PR. (2017). Comorbidity of periodontal disease: Two sides of the same coin? An introduction for the clinician. *J. Oral Microbiol.*, **9**(1): 1332710.
- INGMAN T, SORSA T, SUOMALAINEN K, HALINEN S, LINDY O, LAUHIO A, SAARI H, KONTTINEN YT, GOLUB LM. (1993). Tetracycline inhibition and the cellular source of collagenase in gingival crevicular fluid in different periodontal disease. A review article. *J Periodontol*, **64**: 82–88.
- INGMAN T, TERVAHARTIALA T, DING Y, TSCHESCHE H, HAERIAN A, KINANE D, KONTTINEN YT, SORSA T. (1996). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, **23**: 1127–1132.
- KASAI H, CRAIN PF, KUCHINO Y, NISHIMURA S, OOTSUYAMA A, TANOOKA H. (1986). Formation of 8-hydroxyguanine moiety in DNA by agents producing oxygen radicals and cellular evidence for its repair. *J Carcinogenesis*, **7**(11):1849–51.
- KAUFMAN E, LAMSTER IB. (2002). The diagnostic applications of saliva – a review. *Crit Rev Oral Biol Med*, **13**: 197–212.
- KIILI M, COX SW, CHEN HY, WAHLGREN J, MAISI P, ELEY BM, SALO T, SORSA T. (2002). Collagenase-2 (matrix metalloproteinase- 8) and collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol*, **29**: 224–232.
- KINANE DF, DARBY IB, SAID S, et al. (2003). Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *J Periodontal Res.* **38**:400-404.
- KIVELA-RAJAMAKI M, MAISI P, SRINIVAS R, TERVAHARTIALA T, TERONEN O, HUSA V, SALO T, SORSA T. (2003). Levels and molecular forms of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin-1) and matrix metalloproteinase-8 (collagenase-2) in diseased human peri-implant sulcular fluid (PISF). *J Periodontal Res.*, **38**: 583–590. (1)
- KIVELA-RAJAMAKI M, TERONEN O, MAISI P, HUSA V, TERVAHARTIALA T, PIRILÄ E, SALO T, MELLANEN L, SORSA T. (2003). Laminin-5 gamma-2 chain and collagenase-2 (matrix metalloproteinase-8) in human peri-implant sulcular fluid. *Clin Oral Impl Res.*, **14**: 158–165. (2)

- KRAFT-NEUMÄRKER M, LORENZ K, KOCH R, HOFFMANN T, MÄNTYLÄ P, SORSA T, NETUSCHIL L. (2012). Full-mouth profile of active MMP-8 in periodontitis patients. *J Periodontal Res.*, **47**(1): 121–128
- KURITA-OCHIAI T, SETO S, SUZUKI N, et al. (2008). Butyric acid induces apoptosis in inflamed fibroblasts. *J Dent Res.* **87**:51-55
- KURITA-OCHIAI T, AMANO S, FUKUSHIMA K, et al. (2003). Cellular events involved in butyric acid-induced T cell apoptosis. *J Immunol.*, **171**:3576-3584.
- KUULA H, SALO T, PIRILA E, TUOMAINEN AM, JAUHIAINEN M, UITTO VJ, TJÄDERHANE L, PUSSINEN PJ, SORSA T. (2009). Local and systemic responses in matrix metalloproteinase 8-deficient mice during *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis. *Infect Immun*, **77**: 850–859.
- KUULA H, SALO T, PIRILÄ E, TUOMAINEN AM, JAUHIAINEN M, UITTO VJ, TJÄDERHANE L, PUSSINEN PJ, SORSA T. (2009). Local and systemic responses in matrix metalloproteinase 8-deficient mice during *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis. *Infect Immun*, **77**(2): 850– 859
- LAMONT RJ, JENKINSON HF. (1998). Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis* . *Microbiol Mol Biol Rev.*, **62**:1244-1263 .
- LAMSTER IB, KAUFMAN E, GARBIC JT, WINSTON LJ, SINGER RE. (2003). b-glucuronidase activity in saliva: relationship to clinical periodontal parameters. *J Periodontol.*, **74**:353–9.
- LANG, N.P., BARTOLD, P.M., CULLINAM, M. *et al.* (1999). International Classification Workshop. Consensus report: Aggressive periodontitis. *Annals of Periodontology*, **4**, 53.
- LAUHIO A, FARKKILA E, PIETILAINEN KH, et al. (2016). Association of MMP-8 with obesity, smoking and insulin resistance. *Eur J Clin Invest.*, **46**:757-765.
- LEPPILAHTI JM, AHONEN MM, HERNANDEZ M, MUNJAL S, NETUSCHIL L, UITTO VJ, SORSA T, MÄNTYLÄ P. (2011). Oral rinse matrix metalloproteinase-8 point-of-care immuno test identifies patients with strong periodontal inflammatory burden. *Oral Dis*, **17**: 115–122.
- LEPPILAHTI JM, HERNANDEZ-RIOS PA, GAMONAL JA, TERVAHARTIALA T, BRIGNARDELLO-PETERSEN R, MANTYLA P, SORSA T, HERNANDEZ M. (2014). Matrix metalloproteinases and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid provide site-specific diagnostic value for chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, **41**: 348–356 doi: 10.1111/jcpe.12223. (1)
- LEPPILAHTI JM, KALLIO MA, TERVAHARTIALA T, SORSA T, MÄNTYLÄ P. (2014). Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels predict treatment outcome among smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol*, **85**: 250–260. (2)

- MACNAUL KL, N CHARTRAIN, M LARK, et al. (1990). Discoordinate expression of stromelysin, collagenase, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in rheumatoid human synovial fibroblasts: synergistic effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha on stromelysin expression. *J Biol Chem.* **265**:17238-17245 .
- MANTYLA P, STENMAN M, KINANE DF, TIKANOJA S, LUOTO H, SALO T, SORSA T. (2003). Gingival crevicular fluid collagenase-2 (matrix metalloproteinase-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontal Res.*, **38**: 436–439.
- MARCACCINI AM, NOVAES AB JR, MESCHIARI CA, et al. (2009). Circulating matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy. *Clin Chim Acta.*, **409**:117-122.
- MARIOTTI A. (1993). The extracellular matrix of the periodontium: dynamic and interactive tissues. *Periodontol 2000.* **3**:39-63.
- MILLER CS, KING CP JR, LANGUB MC, KRYSCIO RJ, THOMAS MV. (2006). Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J Am Dent Assoc*, **137**: 322–329.
- MILLER CS, KING CP JR, LANGUB MC, KRYSCIO RJ, THOMAS MV. (2006). Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a crosssectional study. *J Am Dent Assoc*, **137(3)**: 322–329
- NAVAZESH M, KUMAR SK. (2008). Measuring salivary flow: challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc*, **139(Suppl.)**: 35S–40S.
- Newman and Carranza's Clinical Periodontology, Thirteenth Edition. Edited by Newman, Takei, Klokkevold and Carranza.
- NICU EA, LOOS BG. (2016). Polymorphonuclear neutrophils in periodontitis and their possible modulation as a therapeutic approach. *Periodontol 2000.* **71**:140-163.
- NIEDERMAN R, ZHANG J, KASHKET S. (1997). Short-chain carboxylic-acid-stimulated, PMN-mediated gingival inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med.* **8**:269-290 .
- NIKLAUS PL, JAN LINDHE J. (Edited by). Clinical Periodontology and Implant Dentistry, Sixth Edition.
- NIZAM N, GUMUS P, PITKANEN J, TERVAHARTIALA T, SORSA T, BUDUNELI N. (2014). Serum and salivary matrix metalloproteinases, neutrophil elastase, myeloperoxidase in patients with chronic or aggressive periodontitis. *Inflammation*, **37**:1771-1778.
- NOACK B, KIPPING T, TERVAHARTIALA T, SORSA T, HOFFMANN T, LORENZ K. (2017). Association between serum and oral matrix metalloproteinase-8 levels and periodontal health status. *J Periodontal Res.*, **52(5)**:824-831. doi: 10.1111/jre.12450.

- OGAWA T, UCHIDA H. (1995). A peptide, ALTTE, within the fimbrial subunit protein from *Porphyromonas gingivalis*, induces production of interleukin 6, gene expression and protein phosphorylation in human peripheral blood mononuclear cells. *FEMS Immunol Med Microbiol.*, **11**:197-205.
- OZCAKA O, BICAKCI N, PUSSINEN P, SORSA T, KOSE T, BUDUNELI N. (2011). Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. *Oral Dis.*, **17**:68-76.
- PAGE R, SCHROEDER H. (1982). Periodontitis in man and other animals: a comparative review.
- PRESHAW PM, TAYLOR JJ. (2011). How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis?. *J Clin Periodontol.* **38**(Suppl 11): 60-84.
- RAI B, KHARB S, JAIN R, ANAND SC. (2008). Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci*, **50**: 53–56.
- RATHNAYAKE N, AKERMAN S, KLINGE B, LUNDEGREN N, JANSSON H, TRYSELIUS Y, SORSA T, GUSTAFSSON A. (2013). Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *J Clin Periodontol*, **40**: 140–147.
- RATHNAYAKE N, AKERMAN S, KLINGE B, LUNDEGREN N, JANSSON H, TRYSELIUS Y, SORSA T, GUSTAFSSON A. (2013). Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *J Clin Periodontol*, **40**(2): 140– 147 27.
- REYNOLDS JJ, MEICKLE MC. (1997). Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol 2000.* **14**:144-157.
- RYAN ME, RAMAMURTHY NS, GOLUB LM. (1996). Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment. *Curr Opin Periodontol.*, **3**:85-96.
- RYO K, YAMADA H, NAKAGAWA Y. (2006). Possible involvement of oxidative stress in salivary gland of patients with Sjogren's syndrome. *J Pathobiol*, **73**(5):252–60.
- SAGLIE FR, MARFANY A, CAMARGO P. (1988). Intragingival occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* in active destructive periodontal lesions. *J Periodontol.*, **59**:259-265 .
- SAGLIE FR, NEWMAN MG, CARRANZA FA Jr, et al.: Bacterial invasion of gingiva in advanced periodontitis in humans. *J Periodontol.* **53**:217-222 1982.
- SALMINEN A, GURSOY UK, PAJU S, HYVÄRINEN K, MÄNTYLÄ P, BUHLIN K, KÖNÖNEN E, NIEMINEN MS, SORSA T, SINISALO J, PUSSINEN PJ. (2014). Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *J Clin Periodontol*, **41**(5): 442–450

- SEXTON WM, LIN Y, KRYSCIO RJ, DAWSON DR 3RD, EBERSOLE JL, MILLER CS. (2011). Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. *J Clin Periodontol.*, **38**: 434– 44.
- SHIGENAGA MK, GIMENO CJ, AMES BN. (1989). Urinary 8-hydroxy-20-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA*, **86**:9697–701.
- SIES H. (1991). Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. New York: Academic Press.
- SOCRANSKY SS, AD HAFFAJEE, JM GOODSON, et al. (1984). New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol.*, **11**:21-32.
- SORKIN BC, NIEDERMAN R. (1998). Short chain carboxylic acids decrease human gingival keratinocyte proliferation and increase apoptosis and necrosis. *J Clin Periodontol.*, **25**:311-315.
- SORSA T, ALASSIRI S, GRIGORIADIS A, RÄISÄNEN IT, PÄRNÄNEN P, NWHATOR SO, GIESELMANN DR, SAKELLARI D. (2020). Active MMP-8 (aMMP-8) as a Grading and Staging Biomarker in the Periodontitis Classification. *Diagnostics (Basel)*, **10**(2):61. doi: 10.3390/diagnostics10020061.
- SORSA T, HERNANDEZ M, LEPPILAHTI J, MUNJAL S, NETUSCHIL L, MÄNTYLÄ P. (2010). Detection of gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Dis*, **16**: 39–45.
- SORSA T, HERNÁNDEZ M, LEPPILAHTI J, MUNJAL S, NETUSCHIL L, MÄNTYLÄ P. (2010). Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Dis*, **16**(1): 39–45 22.
- SORSA T, MANTYLA P, RONKA H, KALLIO P, KALLIS GB, LUNDQVIST C, KINANE DF, SALO T, GOLUB LM, TERONEN O, TIKANOJA S. (1999). Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chair-side test for monitoring periodontal and peri-implant health and disease. *Ann N Y Acad Sci*, **30**: 130– 140.
- SORSA T, TERVAHARTIALA T, LEPPILAHTI J, HERNANDEZ M, GAMONAL J, TUOMAINEN AM, LAUHIO A, PUSSINEN PJ, MANTYLA P. (2011). Collagenase-2 (matrix metalloproteinase-8) as a point of care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines. *Pharmacol Res.*, **63**: 108–113.
- SORSA T, TERVAHARTIALA T, LEPPILAHTI J, HERNANDEZ M, GAMONAL J, TUOMAINEN AM, LAUHIO A, PUSSINEN PJ, MÄNTYLÄ P. (2011). Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines. *Pharmacol Res*; **63**(2): 108–113 23.

- SORSA T, TJÄDERHANE L, SALO T. (2004). Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*, **10**:311- 318. 23.
- SORSA T, TJÄDERHANE L, KONTTINEN YT, LAUHIO A, SALO T, LEE HM, GOLUB LM, BROWN DL, MÄNTYLÄ P. (2006). Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med*, **38**: 306–321.
- SORSA T, TJÄDERHANE L, KONTTINEN YT, LAUHIO A, SALO T, LEE HM, GOLUB LM, BROWN DL, MÄNTYLÄ P. (2006). Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med*, **38(5)**: 306–321
- SORSA T, TJÄDERHANE L, SALO T. (2004). Matrix metalloproteinases (matrix metalloproteinases) in oral diseases. *Oral Dis*, **10**: 311–318.
- SORSA T, UITTO VJ, SUOMALAINEN K, VAUHKONEN M, LINDY S. (1988). Comparison of interstitial collagenases from human gingiva, sulcular fluid and polymorphonuclear leukocytes. *J Periodontal Res*, **23**: 386–393.
- TAYLOR JJ, PRESHAW PM, DONALDSON PT. (2004). Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol 2000*. **35**:158-182.
- TERONEN O, KONTTINEN YT, LINDQVIST C, SALO T, INGMAN T, LAUHIO A, DING Y, SANTAVIRTA S, SORSA T. (1997). Human neutrophil collagenase matrix metalloproteinase-8 in peri-implant sulcus fluid and its inhibition by clodronate. *J Dent Res*, **76**: 1529–1537.
- TERVAHARTIALA T, PIRILA E, CEPONIS A, et al. (2000). The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2, -8, -13, and -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Res*. **79**:1969-1977.
- TONETTI MS, FREIBURGHaus K, LANG NP, BICKEL M. (1993). Detection of interleukin-8 and matrix metalloproteinases transcripts in healthy and diseased gingival biopsies by RNA/PCR. *J Periodontal Res*, **28(6)**: 511–513
- UITTO VJ, SUOMALAINEN K, SORSA T. (1990). Salivary collagenase. Origin, characteristics and relationship to periodontal health. *J Periodontal Res*, **25**: 135–142.
- UITTO VJ, TRYGGVASON K, SORSA T. (1987). Collagenolytic enzymes in periodontal diseases. *Proc Finn Dent Soc*, **83**: 119–130.
- WICK PA, MOMBELLI A, PAGANO S, et al. (2013). Anti-apolipoprotein A-1 autoantibodies as biomarker for atherosclerosis burden in patients with periodontitis. *J Periodontal Res.*, **48**:350-356

WU LL, CHIOU CC, CHANG PY, WU JT. (2004). Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetes. *Clin Chem Acta*, **339**:1–9.

ZAMORA-PEREZ AL, ORTIZ-GARCÍA YM, LAZALDE-RAMOS BP, GUERRERO-VELÁZQUEZ C, GÓMEZ-MEDA BC, RAMÍREZ-AGUILAR MÁ, ZÚÑIGA-GONZÁLEZ GM. (2015). Increased micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa and oxidative damage in saliva from patients with chronic and aggressive periodontal diseases. *J Periodontal Res.*, **50**(1):28-36. doi: 10.1111/jre.12175.



EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı



ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı : Cavid
Soyadı : Mammadov

II-Eğitimi

2018-202? : Ankara Üniversitesi, Diş Hekimliği
Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı-
Ankara
2006-2011 : Azerbaycan Tıp Üniversitesi Stomatologiya
Fakültesi, Bakü, Azerbaycan
2001-2006 : Şirvan Özel Türk Lisesi, Şirvan, Azerbaycan
1994-2001 : N:10 Elçin İmanov Adına Okul, Şirvan,
Azerbaycan
Yabancı dili : İngilizce, Rusça

III-Ünvanları

Dt.

IV-Mesleki Deneyimi

2006-2011 : Azerbaycan Tıp Üniversitesi Stomatologiya
Fakültesi
2013-2018 : Şirvan Devlet Hastanesi (Genel diş hekimi),
2018- : Uzmanlık öğrencisi (Tam zamanlı)
Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı Ankara, Türkiye

V-Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

- International Association of Dental Research
- Türk Periodontoloji Derneği

VI-Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:

- Effect of smoking on salivary free amino acid levels. Duygu Taş, Canan Önder, Şivge Kurgan, **Cavid Mammadov**, Muhittin A. Serdar. Tob. Induc. Dis. 2018;16(Suppl 3):A34
- Periodontal Hastalıkların Etiyolojisi; Konak ve Savunma Mekanizmaları. Şivge KURGAN, Duygu TAŞ, **Cavid MAMMADOV**. Tezel A, editör. Periodontal Hastalıkların Etiyolojisi; Genel Bakış. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020. p.17-24.

Sözlü Sunumlar ve Poster Sunumları:

- **Cavid Mammadov**, Volkan Şengül, Canan Önder, Şivge Kurgan, Meral Günhan, Emre Diker. Türk Periodontoloji Derneği 49. Bilimsel Kongresi konferansı dahilinde kongre bildiri kitapçığındaki “ Anterior Bölgede İmplant Etrafında Yumuşak Doku Estetiği Amacıyla Roll Flep Tekniği: Vaka Raporu”, Kasım 2019, Antalya, Türkiye.