T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

SERUM D VİTAMİNİ KONSANTRASYONUNUN PERİODONTAL HASTALIKLARDA DİŞ ETİ OLUĞU SIVISINDAKİ MMP-9 SEVİYESİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hazırlayan

Dt. Yeşim AYHAN YILDIRIM

Danışman

Prof. Dr. Ayla ÖZTÜRK

Uzmanlık Tezi

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDH-2022-11806 kodlu proje ile desteklenmiştir.

MART 2023

KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Dt. Yeşim AYHAN YILDIRIM

YÖNERGEYE UYGUNLUK

"Serum D Vitamini Konsantrasyonunun Periodontal Hastalıklarda Diş Eti Oluğu Sıvısındaki MMP-9 Seviyesi ile İlişkisinin Değerlendirilmesi" adlı yüksek lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan	**Danışman**
Yeşim AYHAN YILDIRIM	**Prof. Dr. Ayla ÖZTÜRK**

Periodontoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Ayla ÖZTÜRK

Prof. Dr Ayla ÖZTÜRK danışmanlığında **Yeşim AYHAN YILDIRIM** tarafından hazırlanan **"Serum D Vitamini Konsantrasyonunun Periodontal Hastalıklarda Diş Eti Oluğu Sıvısındaki MMP-9 Seviyesi İle İlişkisinin Değerlendirilmesi"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakütesi Periodontoloji Anabilim Dalında **Uzmanlık tezi** olarak kabul edilmiştir.

16/03/2023

JÜRİ **İmza**

Danışman : Prof. Dr. Ayla ÖZTÜRK ……

(Erciyes Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalı)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İnci DEVRİM ..……..

(Anabilim Dalı)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Duygu KILIÇ …….

(Anabilim Dalı)

ONAY

Bu tezin kabulü Fakültemiz Yönetim Kurulunun.....tarih ve..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../….

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Ayla ÖZTÜRK

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecince bana iyi hekim olma yolunu gösteren, mesleğimi icra etmem için engin bilgi ve tecrübesi ile bana her zaman yol gösteren, her konuda desteğini gördüğüm tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Ayla ÖZTÜRK'e, uzmanlık eğitimim boyunca desteğini her zaman hissettiğim, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, sabır, emek ve sevgileriyle bizlere ihtiyaç duyduğumuz eğitim ve çalışma ortamını sağlayan sayın hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Duygu KILIÇ ve Dr. Öğr. Üyesi İnci DEVRİM'e sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Tezimin biyokimyasal laboratuvar aşamalarının gerçekleştirilmesinde bilgi, beceri ve deneyimlerini hiç esirgemeden paylaşan ve sabırla yardımcı olan sayın hocalarım Prof. Dr. Cevat YAZICI ve Dr. Öğr. Gör. Hatice SARAÇOĞLU'na,

Çalıştığım yıllar boyunca her zaman yanımda olan, birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım Periodontoloji Anabilim Dalı asistan arkadaşlarıma ve bölümümüzün tüm personeline,

Bana her zaman destek olan, yol arkadaşım, sevgili eşim Coşkun YILDIRIM'a,

Emeklerini benden esirgemeyen, hayatımdaki bütün zorluklarda yanımda olan sevgili annem Hamide AYHAN ve abim Gökhan AYHAN'a, varlığı hayatımın en büyük şansı olan biricik halam Nazik AKTAŞ'a, arkadaştan öte ailem olan sevgili dostlarım Melek KILIÇ AVŞAR, Kübra EMANET ve Büşra SANLI'ya çok teşekkür ediyorum.

Uzmanlık tezimi, beni büyüten, bugüne gelmemde en büyük emeği olan, kalbimde yaşattığım CANIM BABAMA ithaf ediyorum.

YEŞİM AYHAN YILDIRIM

KAYSERİ/2023

SERUM D VİTAMİNİ KONSANTRASYONUNUN PERİODONTAL HASTALIKLARDA DİŞ ETİ OLUĞU SIVISINDAKİ MMP-9 SEVİYESİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yeşim AYHAN YILDIRIM

Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi, Mart 2023

Danışman: Prof. Dr. Ayla ÖZTÜRK

ÖZET

Periodontal hastalıklar, diş çevresindeki destek dokuları etkileyen, tedaviyle kontrol altına alınamazsa ilerleyici ve dentisyon kaybına kadar varan sonuçları olabilen, sistemik inflamasyona katkıda bulunabilen kronik iltihabi hastalıklardır. D vitamini, kalsiyum ve fosfor homeostazının sürdürülmesinin yanı sıra hücre proliferasyonu ve farklılaşması, hücresel-humoral immünite ve kardiyovaskuler fonksiyon gibi birçok fizyolojik olayda rol oynar. Ayrıca kemik metabolizması ve periodontal sağlık ile de yakından ilişkilidir. Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9), MMP'lerin jelatinaz alt ailesine ait bir enzim olup görevi, hücre matriksi bileşiminin düzenlemektir. MMP-9 esas olarak bazal membranın ana bileşeni olan tip 4 kollajeni parçalar. Çalışmamızın amacı, periodontal hastalıklarda serum vitamin D konsantrasyonu ile diş eti oluğu sıvısı MMP-9 seviyesi arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir. Çalışmamıza 57 periodontal sağlıklı, 75 gingivitis ve 68 periodontitis olmak üzere 200 kişi dahil edilmiş olup bu gruplar kendi içinde katılımcıların serum D vitamini seviyelerinin 10 ng/ml'nin altında ve üstünde olmasına göre 2 alt gruba ayrıldı. Periodontal sağlıklı ve gingivitis hastalarının 4 molar dişinden (molar diş çekilmiş ise premolar dişlerden), periodontitisli hastaların ise en derin sondalanabilir cep derinliği değerine sahip 4 dişinden diş eti oluğu sıvısı (DOS) örnekleri toplandı. Gruplar arası değerlendirmede, plak indeksi (PI), gingival indeks (GI), sondalanabilir cep derinliği (SCD), sondalamada kanama (SK) ve klinik ataşman kaybı (KAK) klinik parametreler olarak; DOS MMP-9 seviyeleri biyokimyasal parametreler olarak kullanıldı. Çalışmamızda PI, GI, SK ve DOS MMP-9 değerleri sırasıyla en yüksek periodontitis sonrasında gingivitis ve sağlıklı grupta kaydedildi. Her 3 grup arasındaki bu farklılık istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). Sağlıklı, gingivitis, periodontitis grupları içinde PI, GI, SK ve DOS MMP-9 seviyelerinin serum D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin altında olanlarda, 10 ng/ml'nin üstünde olanlara göre daha yüksek olduğu gözlendi. Ancak PI, GI, SK arasındaki bu farklılık istatiksel olarak anlamlı değilken, DOS MMP-9 seviyeleri arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Bulgularımız D vitamininin, periodontal hastalığın ilerleme hızına ve şiddetine etkisi olabileceğini ve DOS MMP-9 seviyelerini düşürerek periodontal dokuların yıkımını yavaşlatabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: D vitamini, Diş Eti Oluğu Sıvısı , Matrix Metalloproteinaz-9, DOS, MMP-9, Periodontal Sağlık, Gingivitis, Periodontitis

EVALUATION OF THE RELATIONSHIP OF SERUM VITAMIN D CONCENTRATION WITH MMP-9 LEVEL IN GINGUAL CREVICULAR FLUID IN PERIODONTAL DISEASES

Yeşim AYHAN YILDIRIM

Erciyes University, Faculty of Dentistry, Department of Periodontology

Specialization Thesis, March 2023

Consultant: Prof. Dr. Ayla ÖZTÜRK

ABSTRACT

Periodontal diseases are chronic inflammatory diseases that affect the supporting tissues around the teeth, can lead to progressive and dentition loss if not controlled with treatment, and can contribute to systemic inflammation. In addition to maintaining calcium and phosphorus homeostasis, vitamin D plays a role in many physiological events such as cell proliferation and differentiation, cellular-humoral immunity and cardiovascular function. It is also closely related to bone metabolism and periodontal health. Matrix Metalloproteinase-9 is an enzyme belonging to the gelatinase subfamily of MMPs and its task is to regulate the composition of the cell matrix. MMP-9 mainly breaks down type 4 collagen. The aim of our study was to evaluate the relationship between serum vitamin D concentration and gingival crevicular fluid MMP-9 level in periodontal diseases. Our study included 200 participants , 57 of whom were periodontal healthy, 75 gingivitis and 68 periodontitis, and these groups were divided into 2 subgroups according to whether the serum vitamin D levels of the participants were below or above 10 ng/ml. Gingival crevicular fluid (GCF) samples were collected from 4 molars (premolars if molars were extracted) of periodontal healthy and gingivitis patients, and from 4 teeth of periodontitis patients with the deepest probable pocket depth. In the evaluation between groups, plaque index (PI), gingival index (GI), probable pocket depth (PPD), bleeding of probing (BOP) and clinical attachment loss (CAL) were clinical parameters; GCF MMP-9 levels were used as biochemical parameters. In our study, PI, GI, BOP and GCF MMP-9 values were highest in periodontitis, followed by gingivitis and healthy groups. This difference between all 3 groups is statistically significant ($p<0,001$). In the healthy, gingivitis and periodontitis groups, PI, GI, BOP and GCF MMP-9 levels were higher in those with serum vitamin D levels below 10 ng/ml than in those with a serum vitamin D level above 10 ng/ml. However, while this difference between PI, GI, BOP was not statistically significant, a statistically significant difference was found between GCF MMP-9 levels ($p<0,001$). Our findings showed that vitamin D may have an effect on the rate and severity of periodontal disease and slow down the destruction of periodontal tissues by affecting DOS MMP-9 levels.

Key Words: Vitamin D, Gingival Crevicular Fluid, Matrix Metalloproteinase-9, GCF, MMP-9, Periodontal Health, Gingivitis, Periodontitis

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ii

YÖNERGEYE UYGUNLUK iii

ONAY iv

TEŞEKKÜR v

İÇİNDEKİLER viii

KISALTMALAR ve SİMGELER x

TABLOLAR LİSTESİ xii

ŞEKİLLER LİSTESİ xiii

1.GİRİŞ VE AMAÇ 1

2.GENEL BİLGİLER 4

2.1.Periodontal Sağlık 4

2.2. Periodontal Hastalıklar 6

2.2.1.Gingivitis 6

2.2.2.Periodontitis 9

2.3.Periodontal Hastalıkların Patogenezi 12

2.4. D VİTAMİNİ 14

2.4.1.D Vitamininin Fizyolojisi ve Metabolizması 14

2.4.2.D Vitamini Seviyesinin Tespit Edilmesi 16

2.4.3. D Vitamininin Biyolojik Etkileri 18

2.4.3.1. D Vitamini ve İmmün Sistem 18

2.4.3.2.D Vitamininin Kemik Metabolizması ve Osteoporoz Üzerine Etkisi 19

2.4.3.3.D Vitamininin Periodontal Sağlık ve Hastalıktaki Rolü 20

2.4.3.4.D Vitamininin Diğer Dokulara Etkisi 22

2.4.4.D Vitamini Eksikliği 23

2.4.4.1. D Vitamini Eksikliğinin Belirlenmesi 23

2.4.4.2. D Vitamini Eksikliğinin Nedenleri ve Risk Faktörleri ... 24
2.4.4.3. D Vitamini Eksikliğinde Görülen Belirtiler ve Bulgular 26
2.4.5.D Vitamini Kaynakları ... 26
2.5.Matriks Metalloproteinazlar ... 28
2.5.1.Matriks Metalloproteinazların Yapısı ve Sınıflandırılması ... 28
2.5.2.Matriks Metalloproteinazlar ve Periodontal Doku Yıkımı ... 34
2.5.3.Matriks Metalloproteinaz-9 ... 35
2.5.4.Matriks Metalloproteinaz-9 ve Periodontal Hastalıklarla İlişkisi .. 38
2.6.Diş Eti Oluğu Sıvısı ... 39
2.6.1. Diş Eti Oluğu Sıvısının İçeriği ... 44
2.6.2.Diş Eti Oluğu Sıvısı Toplama Yöntemleri ... 47
2.6.3. Diş Eti Oluğu Sıvısının Hacminin Ölçülmesi ... 49
3.MATERYAL VE METOT ... 52
3.1.Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri ... 52
3.2.Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri ... 52
3.3.Çalışma Grupları ... 53
3.4.Klinik Periodontal Durumun Değerlendirilmesi ... 53
3.5. Diş Eti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Elde Edilmesi ... 55
3.6.Biyokimyasal Analiz ile MMP-9 Seviyesinin Tayini ... 56
3.7.İstatiksel Analiz ... 60
4.BULGULAR ... 61
5.TARTIŞMA ... 74
6.SONUÇLAR ... 86
7.KAYNAKLAR ... 88
EKLER ... 121
ÖZGEÇMİŞ ... 122

KISALTMALAR ve SİMGELER

MMP	: Matriks Metalloproteinaz
DOS	: Diş Eti Oluğu Sıvısı
PI	: Plak İndeksi
GI	: Gingival İndeks
SCD	: Sondalanabilir Cep Derinliği
SK	: Sondalamada kanama
KAK	: Klinik Ataşman Kaybı
VDR	: D Vitamini Reseptörü
MT-MMP	: Membran Tip Matriks Metalloproteinaz
MBP	: Myelin Bazik Proteini
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
LPS	: Lipopolisakkarit
PGE2	: Prostaglandin E2
IL	: İnterlökin
TNF-α	: Tümör Nekrotizan Faktör Alfa
TIMP	: Tissue İnhibitör of Matriks Metalloproteinaz
25(OH)D	: 25-Hidroksivitamin D
1,25(OH)2D	: 1,25- Dihidroksivitamin D
24,25(OH)2D	: 24,25-Dihidroksivitamin D
Ca	: Kalsiyum
Na	: Sodyum
P	: Fosfor
K	: Potasyum
NO	: Nitrik oksit

CRP	: C-Reaktif Protein
Cys	: Sistein
PTH	: Paratiroid Hormon
MED	: Minimum Eritematik Doz
A.a	: Aggregatibacter Actinomycetemcomitans
P. Gingivalis	: Prophyromonas Gingivalis
PG	: Proteoglikan
GAG	: Glikozaminoglikan
DPP II	: Dipeptidil peptidaz II
NHANES III	: Üçüncü Ulusal Sağlık ve Beslenme Muayenesi Araştırması
SRP	: Scaling- Root Planing
CYP27B1	: 1-Alfa Hidroksilaz
IU	: International Unit
C5a	: Kompleman 5a
IFN	: İnterferon
ICAM 1	: İntersellüler Adhezyon Molekülü 1
UVA	: Ultraviyole A
UVB	: Ultraviyole B
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
DM	: Diabetes Mellitus

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Periodontal Sağlık Seviyeleri 5

Tablo 2: Klinik uygulamada periodontal sağlık ve plak kaynaklı gingivitis için tanısal parametreler 8

Tablo 3: Periodontitisin Evreleri 11

Tablo 4: Periodontitisin Derecelendirmesi 11

Tablo 5: D vitamini eksikliği için risk faktörleri[116] 25

Tablo 6: Matriks Metalloproteinaz Tipleri 30

Tablo 7:MMP'lerin etki ettiği substratlar (ekstrasellüler matriks bileşenleri) 31

Tablo 8: Çalışma Grupları 53

Tablo 9: Silness/Löe plak indeksi skorlaması 53

Tablo 10: Löe/Silness gingival indeks skorlaması 54

Tablo 11: Gruplara göre cinsiyetin dağılımı 61

Tablo 12: Gruplara göre yaşın karşılaştırılması 61

Tablo 13:PI değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması 63

Tablo 14:GI değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması 64

Tablo 15: Sondalanabilir cep derinliklerinin (SCD) gruplara göre karşılaştırılması 65

Tablo 16: Klinik ataşman kaybı (KAK) değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması 66

Tablo 17: DOS hacmi değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması 67

Tablo 18: DOS örneği alınan dişin cep derinlikleri değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması 68

Tablo 19: Sondalamada kanama(SK) değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması 69

Tablo 20a : Teşhis ve D vitamini seviyelerine göre MMP-9 değerlerinin karşılaştırılması 70

Tablo 20b : Teşhis ve D vitamini konsantrasyonlarına göre MMP-9 değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve çoklu karşılaştırma sonuçları 70

Tablo 21: D vitamini ve MMP-9 seviyeleri arasındaki ilişkinin incelenmesi 71

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: 25(OH)D vitamini ölçme yöntemleri[77]..... 17

Şekil 2: Diş Eti Oluğu Sıvısı Üretilme Aşamaları 42

Şekil 3: Diş Eti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Toplanması 56

Şekil 4: MMP-9 ELISA Kiti 57

Şekil 5: Stok standarttan, standart serinin hazırlanması 58

Şekil 6: Matriks Metalloproteinaz 9 (MMP 9) standart grafiği (R^2=0.99) 60

Şekil 7: Periodontal Sağlıklı Grupta MMP-9 ile D Vitamini Seviyeleri Arasındaki İlişkinin Saçılım Grafiği ile Gösterimi 71

Şekil 8: Gingivitis Grubunda MMP-9 ile D Vitamini Seviyeleri Arasındaki İlişkinin Saçılım Grafiği ile Gösterimi 72

Şekil 9: Periodontitis Grubunda MMP-9 ile D Vitamini Seviyeleri Arasındaki İlişkinin Saçılım Grafiği ile Gösterimi 72

Şekil 10: Gruplara Göre MMP-9 Değerlerine Ait Kutu Grafiği 73

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Periodontal sağlık; bireyin normal şekilde işlev görebildiği ve geçmiş periodontal hastalıklara bağlı herhangi bir zihinsel veya fiziksel sekelin kalmadığı, inflamatuar periodontal hastalıktan arındırılmış bir durum olarak tanımlanır [1]. Tipik olarak periodontal sağlık, sondalamada veya spontan kanama olmaması, kızarıklık, eritem, şişkinlik, ödem gibi inflamasyon belirtilerinin görülmemesi ile karakterizedir [2].

Periodontal hastalıklar, diş çevresindeki destek dokular üzerinde etkili olan, tedaviyle kontrol altına alınamazsa ilerleyici ve dentisyon kaybına kadar varan sonuçları olabilen, sistemik inflamasyona katkıda bulunabilen kronik iltihabi hastalıklardır. Periodontal hastalıkların en önemli etiyolojik faktörü , dişler ve diş eti üzerinde biriken mikrobiyal biyofilm olan dental plak bakterileridir. Gingivitis; inflamatuvar sürecin lokal olarak diş eti ile sınırlı olduğu durumdur. Gingivitis tedavi edilmeyip ilerlediğinde klinik olarak inflamatuvar bulguların yanı sıra ataşman kaybı, radyografik muayenede kemik kaybı görülür ve tüm bu sürece bağlı olarak diş kayıpları olabilir. Bu durumlar ise periodontitis olarak sınıflandırılır [3].

Periodontal hastalıklar multifaktöriyel hastalıklar olmakla beraber birçok sistemik hastalıklarla ve durumla etkileşimli olabilir. Çeşitli sistemik hastalıkların varlığı periodontal hastalıklara sebep olabilir veya sistemik hastalığın bir belirtisi olmayan periodontal bir hastalığın tedavi sonucunu da etkileyebilir [4]. Bu nedenle periodontal hastalıkların tanısı ve tedavi esnasında sistemik hastalık ve durumların da göz önünde bulundurulması oldukça önemlidir.

D vitamini, güneş ışığından gelen ultraviyole ışına maruz kaldıktan sonra insan derisi tarafından üretilen veya kişinin diyet ile alabileceği konak kaynaklı steroid yapıda bir moleküldür [5]. D vitamini, kalsiyum ve fosfor homeostazının sürdürülmesinin yanı sıra hücre proliferasyonuyla farklılaşması, hücresel-humoral immüniteyle kardiyovaskuler

işlev vb. pek çok fizyolojik olayda role sahiptir. Ayrıca kemik metabolizması ve periodontal sağlık ile de yakından ilişkilidir [6][7][8].Son yıllarda yapılan çalışmalar diyet ile kalsiyum ve D vitamini takviyesinin periodontal sağlığı iyileştirebileceğini, mandibuladaki kemik mineral yoğunluğunu artırabileceğini ve alveoler kemik rezorpsiyonunu inhibe edebileceğini göstermiştir [9][10]. Ayrıca D vitamininin fizyolojik etkilerini gerçekleştirmek için bağlandığı reseptörü VDR'nin farklı genotiplerinin periodontitis ile artmış alveoler kemik kaybıyla, klinik ataşman kaybıyla ve diş kaybıyla ilgili olduğu ortaya konmuştur [11][12][13] . VDR genindeki polimorfizmlerin varlığı ile periodontitis arasındaki bu ilişkiler, D vitamininin periodontal sağlıktaki rolünü desteklemektedir.

Matriks metalloproteinazlar (MMP' ler), hücre-matriks kompozisyonunun dengesinde önemli rolü olan , kollajenler de dahil olmak üzere ekstrasellüler matriks moleküllerini parçalayabilen çinko bağımlı enzim ailelerindendir [14]. MMP'ler substrat özelliğine, bölge organizasyonuyla dizi homolojisine dayalı olarak, kollajenazlar, jelatinazlar, stromelizinler, matrilizinler, MT-MMP (Membran tipi MMP)'ler ve öteki MMP türleri olarak 6 gruba ayrılır [15][16]. MMP'ler, bağ dokusu homeostazında ile periodontal hastalıkların patogenezinde temel bir role sahiptir ve periodontitis ile alakalı geniş biyolojik tesirlere sahiptir [17]. Doku yıkımı ile ilgili en yaygın MMP tipleri kollajenaz ailesinden MMP-8, MMP-13 ile MMP-9 ve MMP-14'tür.

Matriks Metalloproteinaz-9 MMP'lerin jelatinaz alt ailesine ait bir enzimdir ve bu nedenle ana substratı jelatindir. MMP-9, keratinositler, monositler, doku makrofajları, polimorfonükleer lökositler ve farklı malign hücreler de dahil olarak farklı hücre tipleri tarafından üretilmektedir. MMP-9'un esas görevi, hücre matriksi bileşimini düzenlemektir. MMP-9, denatüre kollajeni (jelatinler) ve bazal membranın ana bileşeni olan tip 4 kollajeni parçalamaktadır. Söz konusu parçalanma, lenfositlerin ve öteki lökositlerin kan ve lenf dolaşımına giriş çıkışına yardım ederler. MMP-9 ayrıca myelin bazik proteini (MBP) ile tip 2 jelatinler gibi myelin bileşiklerini ayırır ve *otoimmünitenin REGA* modeli olarak adlandırılan, otoimmünite üretebilen kalıntı epitoplara yol açar. Jelatin, elastin, laminin, fibronektin, proteoglikan core protein, myelin, tip 4,tip 5,tip 7, tip 10, tip 11, tip 17 kollajen, serin protez inhibitörleri, substans P, galaktozid bağlayıcı proteinler, IL-2 reseptörü gibi fonksiyonel proteinler MMP-9'un başlıca subsratlarıdır [18][19][20].

MMP izoformları arasında, MMP-9, periodontitisli hastalarda inflamasyon ilerlemesinin aşamalarında mevcut olan en yaygın mediatörlerden biri olduğu çeşitli preklinik modellerde gösterilmiştir. Periodontal dokular patojenik bakterilere maruz kaldıktan sonra ve konakçı yanıtı sırasında vasküler makrofajlar tarafından MMP-9 salındığı gösterilmiştir ve vasküler homeostazın subklinik bir belirteci olduğu kabul edilmiştir [21]. MMP-9 ekspresyonunun periodontitisin aktif aşamalarında periodontal dokuya verilen hasarla ilişkili olduğu düşünülmektedir [22]. MMP-9 ekspresyonunun konakçı savunma mekanizmasını, endotel homeostazını içeren ve periodontal hastalık geliştirme riskinin artmasına yol açan bir dizi olayı tetikleyebileceği vurgulanmıştır [23][24].

Diş eti oluğu sıvısı (DOS), periodontal dokular tarafından üretilen, serum, doku yıkım ürünleri, inflamatuar mediatörler ve dental plak bakterilerine karşı oluşturulmuş antikor gibi lokal faktörlerden oluşan bir eksüdadır. DOS bileşenleri kaynağını serum, bağ dokusu ve gingival epitelden alır [25]. İnflamasyon esnasında, sitokinler, proteinler, proteinazlar, fosfatazlar, matriks metalloproteinazlar gibi enzimler ve lokal doku parçalanma ürünleri gibi çok sayıda hücre ve inflamatuar faktör, DOS'a salınır [26]. DOS'un tanı ve prognoz açısından önemi; diş eti hastalıklarının şiddetini, periodontal tedavinin ve ağız hijyeninin etkinliğini, diş eti cerrahisi sonrası iyileşmeyi ve ağız hijyeninin etkinliğini, lokal yıkım oranını, birleşim ve sulkuler epitelin geçirgenliğini ve periodontal ve sistemik hastalıklar arasındaki ilişkiyi değerlendirme açısından bilgi sunan bir biyobelirteç olmasıdır [27].

Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı; serum vitamin D konsantrasyonunun peridontal sağlıklı , gingivitis ve periodontitis hastalarında dişeti oluğu sıvısındaki MMP-9 seviyesi ile ilişkisini değerlendirir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Periodontal Sağlık

Dünya Sağlık Örgütü'nün sağlık tanımı; "Sağlık, tam bir fiziksel, zihinsel ve sosyal refah halidir ve sadece hastalık veya sakatlığın yokluğu değildir." şeklindedir. Bu tanımdan yola çıkarak periodontal sağlık; bireyin normal şekilde işlev görebildiği ve geçmiş periodontal hastalıklara bağlı herhangi bir zihinsel veya fiziksel sekelin kalmadığı, inflamatuar periodontal hastalıktan arındırılmış bir durum olarak tanımlanabilir [1]. Tipik olarak periodontal sağlık, sondalamada veya spontan kanama olmaması, kızarıklık, eritem, şişkinlik, ödem gibi inflamasyon belirtilerinin görülmemesi ile karakterizedir [2]. 2017 Periodontal ve Peri-implant Hastalık ve Durumların Sınıflaması Dünya Çalıştayı'nda 4 periodontal sağlık seviyesi önerilmiştir. Periodontal durumlar ve periodontal sağlık, bozulmamış ve azalmış periodonsiyum açısından değerlendirilerek detaylandırılmıştır. Bu 4 kategori şunlardır [1]:

1) Bozulmamış periodontal sağlık: Normal bir periodonsiyumda (ataşman veya kemik kaybı olmayan) klinik inflamasyonun ve fizyolojik inflamatuvar yanıtın tamamen yokluğu.

2)Klinik periodontal sağlık: Normal desteğe sahip bir periodonsiyumda klinik inflamasyonun yokluğu veya minimal seviyeleri ile karakterize durum.

3)Periodontal hastalık stabilitesi (azalmış bir periodonsiyumda)

4)Periodontal hastalık remisyonu/kontrolü (azalmış periodonsiyumda)

Tablo 1: Periodontal Sağlık Seviyeleri

	Bozulmamış Periodontal Sağlık	**Klinik Periodontal Sağlık**	**Periodontal Hastalık Stabilitesi**	**Periodontal Hastalık Remisyonu**
Sondalamada Kanama	Hayır	Hayır/Minimum	Hayır/Minimum	Önemli Ölçüde Azaldı
Normal Periodontal Cep Derinlikleri	Evet	Evet	Hayır	Hayır
Normal Kemik Seviyesi	Evet	Evet	Hayır	Hayır
Değiştirici Faktörler	Kontrollü	Kontrollü	Kontrollü	Tam olarak kontrol altına alınamıyor
Predispozan Faktörler	Kontrollü	Kontrollü	Kontrollü	Tam olarak kontrol altına alınamıyor

Bozulmamış ve klinik periodontal sağlık terimleri klinik olarak ataşman kaybı olmayan, radyografide kemik seviyesinin mine-sement sınırının 1.0-3.0 mm apikalinde izlendiği durumu temsil eder. Bozulmamış periodontal sağlık teriminin toplumda görülmesi nadirdir. Çünkü herhangi bir ataşman kaybı, sondalamada kanama, kızarık, şişkinlik, ödem, püy ve sondalamada 3 mm'den fazla cep derinliğinin olmamasının yanı sıra histolojik olarak da hiçbir bozulmanın olmamasını, DOS'ta veya histolojik kesitlerde immün yanıt işaretlerine rastlanmamasını ifade eder. Klinik periodontal sağlık, diş eti oluğu sıvısında ve sondalamada inflamatuvar belirteçler yok ya da çok düşük seviyelerde olduğu ifade eden bir terimdir [1].

Periodontal hastalık stabilitesiyle periodontal hastalık remisyon/kontrolü terimleri, azalmış periodonsiyumdaki sağlığı ifade eder. Periodontal hastalık stabilitesi, periodontitisin lokal ve sistemik etkenlerin kontrol altına alındığı ve başarılı bir şekilde tedavi edildiği durumdur. Periodontal hastalık stabilitesinde sondalamada kanama ve periodontal cep derinlikleri minimaldir. Ataşman seviyesinde optimal iyileşme ve ilerleyici periodontal yıkımın durduğu görülür. Ayrıca günlük sigara içiminin azaltılması ve diyabetin iyi kontrol altına alınması gibi modifiye edici faktörler de kontrol altına alınmıştır. Bu açıdan periodontal hastalık stabilitesinin sağlanması prognostik bir durumu tanımlar [1].

Periodontal hastalık remisyonu/kontrolü, hastalığın ilerlemesinde tedavi ile inflamasyonun tam olarak ortadan kalkmasa da azaldığı ve periodontal cep derinlikleri ve ataşman seviyelerinde bir miktar iyileşmenin elde edildiği, ancak lokal veya sistemik modifiye edici faktörlerin optimal kontrolünün sağlanamadığı durumu temsil eder. Sistemik kronik enflamatuvar hastalıklara sahip bireylerde (örneğin diyabet, romatoid artrit, kardiyovasküler hastalıklar vb.) modifiye edici faktörlerin tam anlamıyla kontrol altına alınması mümkün değildir. Bu tip hastalarda periodontal hastalığın remisyonu amaçlanır [28].

2.2. Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalıklar, diş çevresindeki destek dokuları üzerinde etkili olan, tedaviyle kontrol altına alınamazsa ilerleyici ve dentisyon kaybına kadar varan sonuçları olabilen, sistemik inflamasyona katkıda bulunabilen kronik iltihabi hastalıklardır. Periodontal hastalıklar, dişler ve diş eti üzerinde biriken mikrobiyal biyofilm olan dental plak bakterileri tarafından başlatılır. İnflamatuvar süreç lokal olarak diş eti ile sınırlı olduğunda gingivitis; tedavi edilmeyip ilerlediğinde ise ataşman, kemik ve diş kaybının görülmesi halinde periodontitis olarak sınıflandırılır [3].

2.2.1.Gingivitis

Gingivitis; diş eti ile sınırlı, önceki periodontitisin başarılı bir biçimde tedavi edildiği ancak halihazırdaki klinik ataşman kaybı olan (azalmış periodonsiyum) kişilerde tekrar diş eti iltihabı olan durumlar haricinde, ataşman ve alveol kemiği kaybının olmadığı, periodontal ligament ile sement içine ilerlemeyen iltihabi bir hastalıktır [29]. Çağımızda Avrupa Periodontoloji Federasyonu ve Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin gerçekleştirdiği periodontal ve peri-implant hastalıkların sınıflaması (2017) çerçevesinde periodontal sağlık ile gingival durumlar; sağlık, dental plağa dayalı olarak oluşan gingivitis ile dental plakla ilişkili olmayan gingivitis şeklinde sınıflandırılmıştır [30].

Dental plağa bağlı olmayan gingival rahatsızlıklarda diş etinde iltihabi durumlar görülür ancak biyofilmin uzaklaştırılmasıyla tedavisi gerçekleşmez. Plağa dayalı gingivitis, diş eti oluğu zaman ya da ona yakın bölgelerde birikmiş olan kommensal oral mikrobiyotanın (diş plağı) disbiyozisi yoluyla, konak savunması aleyhine dengenin bozulması ile başlar. Dental plağa bağlı olarak ortaya çıkan dişeti iltihabı, bakteriyel biyofilmin direnci ve yoğunluğuna bağlı olarak artış gösterebilir. Dental biyofilmin diş

yüzeyinden düzenli şekilde uzaklaştırılmasıyla sağlık durumuna geri dönüş gözlenebilir [3].

Epidemiyolojik olarak gingivitis, bozulmamış bir periodonsiyumda veya periodontitis öyküsü olmayan bir hastada azalmış bir periodonsiyumda, %10 veya daha fazla sondalamada kanama bölgesinin ve cep derinliklerinin 3 mm veya daha az olması ile karakterizedir. % 10 ila % 30 arası kanama bölgesi lokalize gingivitis ,% 30'dan fazla kanama bölgesi varsa generalize gingivitis olarak teşhis konulur[30].

Klinik uygulamada periodontitis hastaları, başarılı bir şekilde tedavi edilirse, cep derinliklerinin 4 mm veya daha az olduğu ve klinik inflamasyonun ve sondalamada kanamanın minimal olduğu istikrarlı bir periodonsiyum elde edebilir. Bu vakalarda enflamasyon belirli bölgelerde ortaya çıkabilir ancak cep derinliklerinin 3 mm ve daha az olduğu durumlarda 'stabil bir periodontitis hastasında gingivitis' olarak teşhisi konur. Tedavi edilen ancak modifiye edici faktörlerin olduğu durumlarda, (örneğin: diyabet, kardiyovasküler hastalık),stabiliteyi/sağlığı ya da gingivitisi ortaya koyan ölçütler periodontitis olmayan bir hastada sağlık/gingivitis parametrelerinden farklılık arz edebilir. Tedavisi yapılan ve stabil periodontitis hastasında "klinik sağlık" eşiği bundan dolayı 4 mm ve daha az olarak belirlenmiştir[30].

Tablo 2: Klinik uygulamada periodontal sağlık ve plak kaynaklı gingivitis için tanısal parametreler

Bozulmamış periodonsiyum	**Sağlık**	**Gingivitis**
Ataşman kaybı	Hayır	Hayır
Cep derinlikleri (pseudo cep olmadığını varsayarsak)	≤3 mm	≤3 mm
Sondalamada kanama	<10%	Evet (≥ %10)
Radyolojik kemik kaybı	Hayır	Hayır
Azalmış periodonsiyum Periodontitis olmayan hasta	**Sağlık**	**Gingivitis**
Ataşman kaybı	Evet	Evet
Cep derinlikleri (tüm siteler & pseudo cep olmadığını varsayarsak)	≤3 mm	≤3 mm
Sondalamada kanama	<10%	Evet (≥ %10)
Radyolojik kemik kaybı	Mümkün	Mümkün
Stabil periodontitis hastası	**Sağlık**	**Periodontitis öyküsü olan bir hastada gingivitis**
Ataşman kaybı	Evet	Evet
Cep derinlikleri (pseudo olmadığını varsayarsak)	≤4 mm (sondalamada kanama yok)	≤3 mm
Sondalamada kanama	<10%	Evet (≥ %10)
Radyolojik kemik kaybı	Evet	Evet

Gingivitis esnasında diş etinde enflamasyona dayalı olarak ortaya çıkan vazodilatasyondan kaynaklı olarak diş etinin rengi gül kurusu soluk pembeden kırmızıya döner. Diş eti kenarı ödeme dayalı olarak fizyolojik bıçak sırtı biçimini

yitirerek küntleşir. Keratinizasyonun azalmasıyla bağ dokusundaki kollajenin kaybından dolayı diş etinin sıkı kıvamı ve stipling yapısı bozulur. Sondalamada kanamanın yanı sıra enflamasyonun derecesine dayalı olarak spontan kanama da olabilir [31]. Ödeme dayalı diş eti büyümesi ve serbest diş eti kenarının koronale kayması sonucu yalancı (pseudo) cepler görülebilir. Ancak birleşim epiteli normal seviyesindedir ve ataşman kaybı yoktur. Gingivitiste DOS hacmiyle akış süratinde artış olur. Alveol kemiğinde yıkım gözlenmez ve radyolojik herhangi bir bulgusu yoktur [31][32].

2.2.2.Periodontitis

Periodontitis, disbiyotik plak biyofilmi ile ilişkilidir ve diş destek dokularının ilerleyici yıkımıyla kendini gösteren kronik multifaktöriyel inflamatuar bir hastalıktır. Periodontitisin başlıca bulguları klinik ataşman kaybıyla radyografik olarak değerlendirilen alveoler kemik kaybı ile kendini gösteren periodontal doku desteği kaybı, periodontal cep derinliklerinde artış ve enflamasyona bağlı sondalamada veya spontan diş eti kanamasıdır. Periodontitis, yüksek prevalansının yanı sıra diş kaybına neden olabilmesi, çiğneme fonksiyonunu ve estetiğini olumsuz etkileyebilmesi, toplumsal eşitsizlik kaynağı olmasıyla hayat kalitesini bozmasından dolayı mühim bir toplumsal sağlık problemidir. Periodontitis, diş kaybıyla çiğneme işlevsizliğinin mühim bir nedenidir. Ayrıca kritik tedavi maliyetlerine yol açması da diğer bir olumsuz özelliğidir [33].

Periodontitisi tanımlayan temel klinik özellikler : 1)İki ve daha fazla komşu olmayan dişlerde saptanan interdental ataçman kaybı, 2)İki ve daha fazla dişte bukkal veya lingual $\geq$3 mm periodontal cep veya gözlenen ataçman kaybının mevcut olmasıdır. Periodontitis teşhisi koyarken travmaya bağlı diş eti çekilmesi; dişin servikal bölgesinde uzanan diş çürükleri; ikinci moların distalinde üçüncü moların malpozisyonu veya ekstraksiyonu ile ilişkili klinik ataşman kaybı; marjinal periodonsiyumdan drene olan endodontik bir lezyon ile dikey bir kök kırığına bağlı periodontal cep meydana gelmesi durumları dışındaki ataşman kayıpları değerlendirilir[33].

2017 Dünya Periodontal ve Peri-implant Hastalık ve Durumlarının Sınıflandırılması Çalıştayında ,patofizyolojiye dayanarak, 3 periodontitis formu tanımlanmıştır[2]:

A. Nekrotizan periodontitis

B. Sistemik hastalıkların doğrudan bir belirtisi olarak periodontitis

C. Periodontitis

Ayırıcı teşhis, anamnez ile nekrotizan periodontitisin spesifik semptom ile semptomlarının varlığına göre veya konakçının immün yanıtını değiştiren yaygın olmayan bir sistemik hastalığın olup olmamasına göre konur. Uluslararası Hastalıkların İstatistiksel Sınıflandırması ve İlgili Sağlık Sorunları (ICD) kodları çerçevesinde sistemik durumların varlığı hastalığın sınıflamasında ilk aşamada değerlendirilmelidir. Harici klinik periodontitis vakaları "periodontitis" olarak teşhis edilir[33] .

Bir periodontitis vakası, evre ve derecesi tanımlanarak karakterize edilir. Evre; hastalığın başlangıç anındaki ciddiyetini, hastalığın yaygınlığını ve dişlerdeki dağılımını aynı zamanda vaka karmaşıklığının boyutunu ortaya koyar. Derece; periodontitis ilerleme süratinin geçmişe bağlı bir analizi dahil olmak üzere, hastalığın biyolojik özelliklerine ilişkin ilave bilgiler sağlamaktadır. Hastalıktaki ilerleme risklerinin değerlendirilmesi; hastalığın prognozunun analiziyle hastalığın ya da tedavisinin hastanın genel sağlığını negatif etkileme riski derecelendirme üzerine etkilidir[33].

Periodontitiste; klinik ataşman kaybı, kemik kaybının miktarıyla yüzdesi, sondalama derinliği, açısal kemik defektlerinin varlığıyla kapsamı, furkasyon tutulumu, diş mobilitesi ve buna dayalı diş kaybı vb. faktörlere bağlı olarak 4 evre tanımlanır. Derecelendirme, derece A (düşük risk), derece B (orta risk), derece C (hızlı ilerleme riski) olacak şekilde 3 kategoriye ayrılır. Hastalığın ilerleme hızı, genel sağlık durumuyla sigara içme ya da diyabette metabolik kontrol seviyesi vb. öteki durumlar derecelendirmeyi etkiler. Bu sayede derecelendirme, klinisyenin tanıda bireysel hasta faktörlerini göz önünde bulundurmasını sağlayarak vaka yönetiminde yol gösterir [33].

Tablo 3: Periodontitisin Evreleri

PERİODONTİTİS EVRELERİ		Evre-I Hafif periodontitis	Evre-II Orta periodontitis	Evre-III Şiddetli periodontitis (ek diş kaybı potansiyeli olan)	Evre-IV Şiddetli periodontitis (dentisyon kaybı potansiyeli olan)
Şiddet	En fazla kayıp olan alandaki interdental CAL	1-2 mm	3-4 mm	≥ 5 mm	≥ 5 mm
	Radyografik kemik kaybı (RBL)	Koronal üçlü (< % 15)	Koronal üçlü (< % 15-33)	Kökün ortası veya apikal üçlüsüne uzanan	Kökün ortası veya apikal üçlüsüne uzanan
	Diş kaybı	Periodontal kaynaklı Diş kaybı yok		Periodontal kaynaklı ≤ 4 diş	Periodontal kaynaklı ≥ 5 diş
Kompleksite	Lokal SCD	Max. SD ≤ 4mm Genelde horizontal kemik kaybı	Max. SD ≥ 5mm Genelde horizontal kemik kaybı	**Evre II'ye ek olarak;** SD ≥ 6mm Vertikal kemik kaybı ≥ 3mm Furka tutulumu Sınıf II-III Orta kret defekti	**Evre III'e ek olarak;** kompleks rehabilitasyon ihtiyaç nedenleri; Çiğneme disfonksiyonu Sekonder okluzal travma (mobilite ≥ 2) Şiddetli kret defekti Bite kollaps,drifting, flaring 20'den az kalan diş (10 karşıt çift)
Boyut ve yayılım	**Tamamlayıcı olarak evreye ekle**	Lokalize < % 30 Generalize Molar/keser dağılım			

Tablo 4: Periodontitisin Derecelendirmesi

Periodontitis Derecesi			Derece A Yavaş hızda ilerleme	Derece B Orta hızda ilerleme	Derece C Hızlı ilerleme
Primer kriter	Dırekt progresyon kanıtı	Longitudinal data (RBL veya CAL)	5 yıldan fazla kayıp yok	< 2mm 5 yıldan fazla	≥ 2mm 5 yıldan fazla
	İndirekt progresyon	% kemik kaybı/ yaş	< 0.25	0.25-1	>1
		Fenotip	Düşük düzeyde yıkımı olan fazla biyofilm birikintileri	Biyofilmle uyumlu yıkım	Mevcut biyofilme göre daha fazla yıkım; Hızlı progresyon ve/veya erken başlangıçlı hastalık dönemlerini düşündüren klinik modeller (örn, molar-kesici paterni, standart tedaviye beklenen yanıtın olmaması)
Dereceyi modifiye ediciler	Risk faktörleri	Sigara	-	< 10 sigara	> 10 sigara
		Diyabet	-	HbA1c < 7	HbA1c > 7

Periodontitisin ana faktörü mikrobiyal dental plak olmakla beraber öncesinde muhakkak

bir gingivitis geçmişi vardır[34][35].Histopatolojik olarak birleşimle cep epitelinde birçok polimorfonükleer lökosit (PMNL), plazma hücreleri, lenfositler ile makrofajlardan oluşan yoğun enflamatuvar hücre infiltrasyonu görülür. Ataşman seviyesi mine-sement sınırının daha apikaline göç etmiştir [36].

Alveol kemikte horizontal ile vertikal kemik yıkımlarıyla beraber kret tepesinde lamina dura sürekliliğinin bozulması, erken dönemlerde dişlerin mesial veya distal yüzeyinde kama şeklindeki defektler ve interdental septum yüksekliğinin azalması periodontitisin radyografik bulgularıdır[31][17].

2.3.Periodontal Hastalıkların Patogenezi

Önceki 100 senede periodontal hastalıkların patogenezini kavramaya dönük gerçekleştirilen geniş çerçeveli mikrobiyolojik analizlerle deneysel çalışmalara göre mikrobiyal dental plak periodontal dokulardaki enflamatuvar cevap için en mühim etiyolojik ajandır. Epidemiyolojik araştırmalardan hareketle ulaşılan bulgular, gingival enflamasyonun kronik periodontitisin bir parçası olduğunu ve gingivitisin kronik periodontitisten evvel oluştuğunu ortaya koymaktadır. Mikrobiyal dental plak gingivitise yok açmakla beraber, kronik periodontitisin oluşup oluşmamasını konak cevabı belirlemektedir. Konak yanıtı ise konağın savunma mekanizmasını etkileyen sistemik hastalıklar, endojen hormonlar, kalıtsal etkenler, ilaçlarla beslenme bozukluklarından etkilenebilir [31].

Konak yanıtı mikroorganizmalar karşısında gelişen bir reaksiyondur ve akut iltihabi hücrelerle (nötrofil) kronik iltihabi hücrelerin (monosit/makrofaj ile lenfosit) organize etkinlikleri sonucu oluşur. İndirekt (konağa dayalı) doku yıkımı, lokal doku yıkımına eden olan nötrofiller vb. konak inflamatuar hücrelerin ya da humoral etkenlerin indüklenmesi, stimülasyonunun ya da aktivasyonunun neticesidir. Söz konusu yıkımı genel olarak, mikrobiyal dental plaktaki periodontal patojen mikroorganizmaların konakta meydana getirdiği inflamatuar ile immün yanıtlar oluşturmaktadır [37].

Sağlıklı periodonsiyumda bakteri invazyonu gözlenmez. Periodontal dokuların savunma mekanizması ile doku bütünlüğü korunur. Tükürük, diş eti oluğu sıvısı akışı, birleşim epiteliyle diş etinin yüksek süratli turnover mekanizmasıyla diş eti epiteli yüzeye tutunmuş olan bakteri ve bakteri ürünleri uzaklaştırılır [38]. Ayrıca tükürük ve dişeti oluğu sıvısındaki aglutidin ile antikorlar bakterilerin öldürülmesini sağlar. Söz konusu ilk savunma hattının geçilmesi durumunda enflamasyon başlamaktadır [39].

Subgingival plakta hemen hemen 300 ile 400 tür bakteri bulunmaktadır. Söz konusu türlerden 10-20 tanesi patolojik periodontal hastalıkların patogenezinde bir role sahiptir [40].Bu bakterilerin hayatta kalma ve periodontal dokularda kolonize olabilmeleri için 1)periodontal dokulara tutunma, 2)çoğalma, 3) habitatlarındaki diğer mikroorganizmalar ile rekabet edebilme ve 4)kendilerini konak savunma mekanizmalarından koruma becerilerine sahip olması gerekir [39]. Mikrobiyal dental plakta ilk olarak Gram (+) koklardan oluşmakta iken plağın olgunlaşmasıyla Gram (-) anaerob bakteri türlerinin baskın olduğu bir biofilme dönüşmektedir. Gram (-) anaerob bakteriler ,bilhassa Actinobacillus actinomycetemcomitans, Fusobacterium nucleatum, Bacteroides ile Porphyromonas, periodontal doku yıkımıyla yakından ilişkilidir [41].

Periodontopatojenler konak dokularındaki yıkıcı tesirlerini sahip oldukları virülans faktörleriyle direkt veya konak cevabını stimüle ederek endirekt olarak göstermektedir [17]. Direkt tesir konak doku hücrelerinin metabolizmalarına etkide bulunan ya da büyümesini önleyen “amonyak, volatil sülfür bileşikleri, yağ asiti ve peptitler vb.” virülans faktörler aracılığıyla gerçekleştirilir [42]. Patojen bakterinin türü çerçevesinde salgılanmış olan virülans etkenleri değişmekle birlikte, periodontal hastalığın oluşmasında yeri bulunan bakterilerden genel olarak “kollajenaz, tripsin benzeri enzim, aril sülfataz, fibronektin yıkıcı enzim ve fosfolipaz A” enzimleri salgılanmaktadır [43]. Periodontopatojen bakteriler periodontal dokuların yıkımında endirekt tesirlerini yerleşmiş oldukları konak dokudan elastaz ile MMP’ler vb. proteinazların salgılanmasını uyarıp göstermektedir [17].

Bakterilerin hücre duvarındaki bir virulans etkeni olan lipopolisakkaritler (LPS) doku içine kadar ilerleme yeteneği ile doğal immun yanıtı harekete geçirir [44]. LPS’ler konak savunma hücrelerinin, bilhassa monositlerin hücre zarlarındaki Toll-like reseptörlerle tanınmaktadır ve PGE2, IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, kollajenazle tromboksan B2 salgılanmasını tetiklemektedir [45]. Konak hücrelerinin ürettiği söz konusu inflamatuar mediatörlerin damar geçirgenliği arttırması bağ dokusunda eksüdatif sıvı artışıyla akut faz proteinlerinin birikimine neden olmaktadır [46][47]. Bakterilerle konak hücrelerinden salgılanmış olan IL-8 ile kompleman 5a (C5a) vb. kemotaktik mediatörler doğal immun yanıtın en önemli akut inflamatuar hücreleri olan nötrofillerin enflamasyon sahasına göçünü sağlar. E-selectin ile ICAM 1 (interselüler adhezyon molekülü) vb. adhezin molekülleri, nötrofillerin damar yüzeyine yapışmasıyla bazal membrandan dışarıya doğru hareketini yönlendirir [48]. Nötrofiller periodontal

patojenler karşısında immun sistemin ilk yanıtını oluşturur ve doku yıkımına yol açacak lizozomal enzimlerle araşidonik asit metabolitleri vb. pro-enflamatuar mediatörleri de sentezler [49]. Nötrofillerin birikmesi ve aktivitesi prostaglandinler (PGE2) ve matriks metalloproteinazlar gibi enzimlerin salınımına yol açar. PGE2, alveol kemiği rezorpsiyonunu indüklemektedir, matriks metalloproteinazlarsa (MMP) bağ dokusunun yıkılmasına neden olmaktadır [50].

Nötrofillerin cevabı yetersiz kalırsa makrofaj hücreleri aktifleşir ve IL-1, IL-6, TNF-α vb. pro-enflamatuar sitokinler ile yüzey reseptörlerini salgılar. Bu sayede antijene has immün yanıtı başlatırlar [51]. Kronik inflamatuar yanıtta; makrofaj, lenfosit ile plazma hücreleri vb. mononükleer hücrelerin infiltrasyonu, fibroblast proliferasyonu ile bağ dokusu yıkımı görülür [47].

Periodontitis, histolojik olarak lenfositle (T ile B lenfositler) monosit hücre aktivasyonu ile, bağ dokusu yıkımıyla kemik rezorpsiyonuyla karakterize kronik inflamatuar bir hastalıktır. Moleküler düzeyde incelendiği zaman periodontitiste, inflamatuar cevabın neticesi olarak periodontal dokularda IL-1β, TNF-α, IL-6, PGE2 ile MMP'ler vb. kollajenle ekstrasellüler matriks yıkımında neden olan inflamatuar mediatörlerin düzeyinin arttığı görülmektedir [52].

2.4. D VİTAMİNİ

2.4.1.D Vitamininin Fizyolojisi ve Metabolizması

D vitamini, güneş ışığından gelen ultraviyole ışına maruz kaldıktan sonra insan derisi (D3) tarafından üretilen veya kişinin diyet ile alabileceği (D2 ve D3) konak kaynaklı steroid yapıda bir moleküldür [5] Çoğu insan, D vitamini ihtiyacının %90 ila% 100'ü güneş ışığından kaynak almaktadır [53].

Vitamin D kavramı, Vitamin D2 (ergokalsiferol) ile Vitamin D3 (kolekalsiferol) olmak üzere iki formu temsil eder [54]. Vitamin D3(kolekalsiferol) insan derisinde, 7-dehidrokolesterolün güneş ışığı veya ultraviyole radyasyonuna maruz kalmasıyla üretilip ayrıca balık yağı ve takviyelerle alınabilirken Vitamin D2 (ergokalsiferol) ergosterolün UVB 290-315 nm ışınlamasına maruz kalmasıyla oluşur ve bitki, bitki içerikleri, yiyeceklerle vücuda alınır [54]. D vitamini prekürsörleri arasındaki tek yapısal fark yan zincirlerinden kaynaklanmaktadır. Ergokalsiferolde yan zincir C-22 ve C-23 arasında çift bağ içerir ve C-24'te metil grubu bulunur [53].

Hem Vitamin D3 hem de Vitamin D2 aktif metabolit haline dönüşebilmek için 25. karbondan hidroksillenerek karaciğerde 25-hidroksivitamin D'ye (25(OH)D) ve ardından böbrekte 1,25-dihidroksivitamin D'ye (1,25(OH)2D) hidroksile edilir [55][56]. 1,25(OH)2D yeterince mevcut olduğunda, böbrekte daha fazla katabolize olan 24,25-dihidroksivitamin D (24,25(OH)2D) oluşur. D vitamini metabolitleri dolaşımda 25(OH)D, 24,25(OH)2D ve 1,25(OH)2D'ye yüksek afiniteye sahip olan ve albümine yüksek homolojiye sahip olan D vitamini bağlayıcı proteine bağlanır. Aktif metabolit 1,25(OH)2D hücreye girmektedir ve vitamin D reseptörüne bağlanmakatdır. Söz konusu kompleks, retinoid reseptörü ile bir heterodimer oluşturmaktadır ve osteokalsin, kalsiyum bağlayıcı protein ya da 24-hidroksilaz vb. yanıt veren bir gen üzerindeki vitamin D'ye yanıt veren bir elemente bağlanır. Bunu transkripsiyon ve translasyon izler ve kalsiyum bağlayıcı protein ya da osteokalsin gibi proteinler oluşur. 1,25(OH)2D aktif kalsiyum taşınması üstündeki bilinen etkisini bağırsak hücrelerinde gösterir. Kalsiyum hücreye zar proteinleri yoluyla girer. Bağırsak hücresinde 1,25(OH)2D, D vitamini reseptörüne bağlanır ve kalsiyum bağlayıcı protein sentezlenir. Bu, hücre içindeki aktif taşımayı düzenler. Kalsiyum, ATP'ye bağlı bir mekanizma ile hücre dışı sıvıya taşınır. Kalsiyumun paraselüler difüzyonu yoluyla pasif taşıma da vardır. Ancak D vitaminine bağlı kalsiyum absorpsiyonu maksimum verime sahiptir [6].

1,25(OH)2 D3 steroid hormon reseptörü ailesinin bir üyesi olan VDR'ye bağlanarak işlevlerini yerine getirir [57][58]. VDR hedef genlerin transkripsiyonel düzenlemesini sağlar [59]. VDR aktivasyonu sonucu birçok gen (örneğin, CYP24A1, CaBP-D9k, CaBP-D28k, osteokalsin ve Rankl) doğrudan upregüle veya bazı genler de (örneğin, PTH ve CYP27B1) downregüle edilir [60][61][62][63][64][65]. VDR, bağırsak epiteli, böbrek tübülleri, paratiroid bezi hücreleri, deri (keratinositler), meme epiteli, pankreas (beta adacık hücreleri), hipofiz bezi, iskelet (osteoblastlar ve kondrositler), bağışıklık sistemi (monositler, makrofajlar ve T-lenfositler) ve germ dokularında mevcuttur. En yüksek VDR içeriğine sahip dokular bağırsak, böbrek, paratiroid bezi ve kemiktir ve bunların hepsi kalsiyum homeostazının sürdürülmesi ile ilişkilidir [66]. Bu nedenle VDR, D vitamininin biyolojik etkilerinde merkezi bir rol oynar [67].

VDR polimorfizmlerinin osteoporoz, romatoid artrit, kanser, diyabet ve periodontitis gibi çeşitli hastalıklarla ilişkisini doğrulayan çok sayıda çalışma bulunmaktadır [68][69][70]. VDR TaqI TT genotipi ve T alelinin transportu Kafkas ve Japon

hastalarda periodontitis ile ilişkili bulunmuşken tt genotipi ve t aleli Çinli deneklerde agresif periodontitis ile ilişkili bulunmuştur [71][72][73].

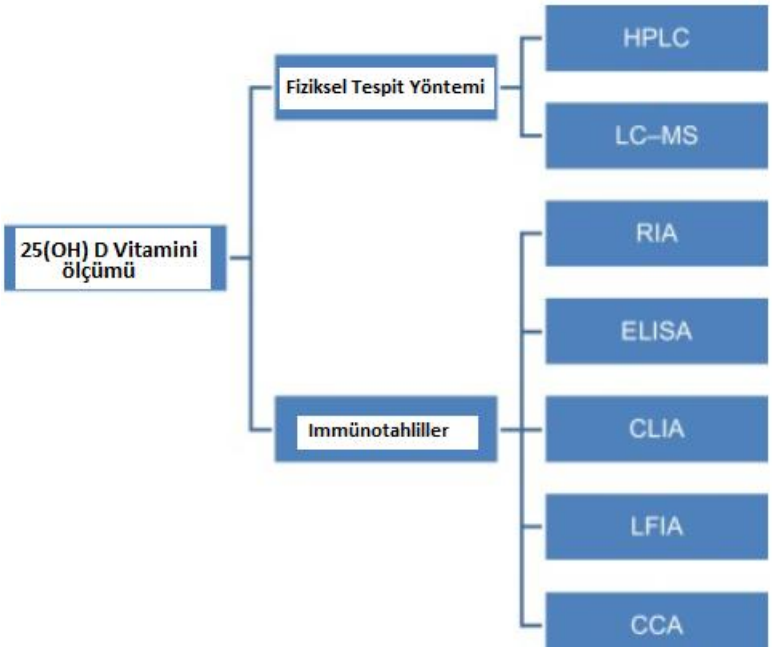
1,25(OH)2D, hedef organlar olan kemik, bağırsak ve böbrek üzerinde etki gösterir ve söz konusu organlardan kana kalsiyum taşınmasını uyarır. 1,25(OH)2D üretimi paratiroid hormonu (PTH) tarafından uyarılır. Artan kalsiyum negatif feedback ile PTH'yi azaltan etki gösterirken 1,25(OH)2D'den de PTH'ye doğrudan bir negatif feedback vardır. Aktif metabolit 1,25(OH)2D ayrıca bir membran reseptörü yoluyla da hızlı etkiler gösterir [6].

2.4.2.D Vitamini Seviyesinin Tespit Edilmesi

Serum 25(OH)D düzeyi, D vitamini seviyesinin standart klinik ölçüsüdür. 25(OH)D, yaklaşık 2-3 haftalık bir yarı ömre sahip olan D vitamininin ana dolaşım şeklidir ve hem diyetle alınan hem de güneş ışınlarına maruz kalarak üretilen D vitamininin toplamıdır [74].

Her ne kadar 1,25(OH)2D'nin, D vitamininin biyolojik bağlamda aktif formu olduğu için D vitamini durumunu değerlendirmede ideal bir ölçü olduğu düşünülse de değildir. Dolaşımdaki 1,25 (OH)2 D'nin yarı ömrü yalnızca 4-6 saattir. 1,25 (OH)2 D'nin dolaşım seviyeleri 25 (OH) D'den bin kat daha azdır. D vitamini eksikliğinde bağırsak kalsiyum emiliminde azalma meydana gelir. Söz konusu sinyal, paratiroid bezlerindeki kalsiyum sensörü tarafından paratiroid hormonunun (PTH) üretimini ve salgılanmasını arttırır [56][75]. PTH, böbrekteki kalsiyumun tübüler yeniden emilimini, iskeletten kalsiyumun mobilizasyonunu ve 1,25 (OH)2 D 'nin renal üretimini artırarak kalsiyum metabolizmasını düzenlemektedir. Bu nedenle, bir hastada D vitamini yetersiz ve eksik hale geldikçe, PTH seviyelerindeki artış, normal veya yüksek 1,25 (OH)2 D seviyelerine neden olur. Bu nedenle 1,25(OH)2D düzeyi D vitamini seviyesini belirlemede uygun bir parametre değildir. Ancak 1,25 (OH)2 D testi, kalsiyum metabolizmasındaki çeşitli kalıtsal ve edinilmiş bozuklukların teşhisine yardımcı olmak için etkili bir şekilde kullanılmıştır [56][74][76].

25(OH)D vitamini ölçümü için fiziksel tespit yöntemleri ve immünoassayler kullanılır. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve LC-MS fiziksel tespit yöntemleri iken radyoimmünoassaylar (RIA'lar), enzime bağlı immünosorbent testleri (ELISA'lar), kemilüminesan immünoassayler (CLIA'lar), lateral akım immünoassayleri ve klinik kimya analizörleri (CCA) tahlilleri immünoassay yöntemlerini oluşturur[77].



Şekil 1: 25(OH)D vitamini ölçme yöntemleri[77].

Fiziksel tespit yöntemleri farklı D vitamini metabolitlerini ve insan serumu veya plazmasında bulunan diğer molekülleri fiziksel olarak ayırmak için likit kromatografisinden yararlanır. Molekülleri afinitelerine, polaritelerine, büyüklük ve konformasyonuna göre ayırmak için organik çözücülerin ve / veya su bazlı çözeltilerin bir karışımı olan sıvı faz kullanır. HPLC ve LC-MS, insan sıvılarında 25(OH)D vitamininin ölçülmesi için güçlü yöntemlerdir. Bu teknikleri kullanmanın faydaları, yüksek hassasiyetleri, yüksek doğruluk ve mükemmel tekrarlanabilirlik profilidir. Ancak bu testler yüksek kaliteli suya, çözücülere ve kimyasallara erişim, fazla zaman, yüksek vasıflı mühendisler ve yüksek maliyet gerektirir [77].

İmmünoassaylar, yani 25(OH) D vitamini ölçümü için antikorlara dayalı tahliller 1985'ten beri mevcuttur ve günümüzde hala en yaygın yöntemlerdir. İmmünoassayler rekabetçi tahlillerdir, yani numunede bulunan 25(OH) D vitamini, bir antikor üzerinde sınırlı sayıda bağlanma bölgesi için etiketli bir 25(OH)D vitamini analoğu ile rekabet eder. Farklı immünotahlil yöntemleri, rekabetçi antijenin etiketlenmesinde ve tespit yönteminde farklılık gösterirler. RIA, 25(OH) D vitamini analogları etiketli radyoaktif iyot 125'e dayanır ve algılama kısmı için gama sayaçları kullanır. ELISA, bir enzimle etiketlenmiş 25(OH) D vitamini analoglarına dayanmaktadır. Yaban turpu peroksidazı (HRP) esas olarak kullanılır ve bunu alkalin fosfataz (ALP) izler. Algılama kolorimetrik bir reaksiyona dayanır ve bir ELISA okuyucusundaki absorbansa göre ölçülür. CLIA

yöntemleri ayrıca bir enzimle etiketlenmiş 25(OH) D vitamini analoglarına dayanır, ancak tespit, belirli bir substrat tarafından ışığın emisyonuna dayanır ve bir fotometre ile ölçülür [77].

2.4.3. D Vitamininin Biyolojik Etkileri

2.4.3.1. D Vitamini ve İmmün Sistem

D vitamininin immün yanıtların düzenlenmesindeki rolünün farkındalığı, aktive CD4 ve CD8 T hücreleri, B hücreleri, nötrofiller ile makrofajlar ve dendritik hücreler vb. antijen sunmuş olan hücreler dahil olmak üzere hemen hemen tüm bağışıklık hücrelerinde VDR'lerin keşfi ile tetiklenmiştir[78]. Bağışıklık sistemi hücrelerinde aktif D vitamini için reseptörlerin fazlaca olması ve bunların bağışıklık sinyalleri tarafından düzenlenmesi, bu hormonun bağışıklık tepkilerinin bir modülatörü olarak önemli bir rol oynadığını göstermektedir[7].

1,25(OH)2 D3 hem doğal hem de adaptif bağışıklık hücrelerini hedefler. Makrofajların kemotaktik ve fagositik yanıtlarını ve ayrıca katelisidin gibi antimikrobiyal proteinlerin üretimini artırarak doğal immün yanıtları uyarır. Antijen sunucu hücreler seviyesinde (dentritik hücreler gibi), 1,25 (OH)2 D3 IL-12 ve IL-23 sitokinlerinin ek olarak, MHC-II-kompleks antijenin ve yardımcı uyarıcı moleküllerin yüzey ekspresyonunu inhibe eder, böylece dolaylı olarak T hücrelerinin polarizasyonunu Thl ve Th17 fenotipinden Th2 fenotipine kaydırır. Ayrıca 1,25(OH)2 D3, Th1 sitokinleri (IL-2 ve IFN-γ) ile Th17 sitokinlerinin (IL-17 ve IL-21) üretimini inhibe ederek ve Th2 sitokinini (IL4) uyararak T hücre yanıtlarını doğrudan etkiler[7].

1,25(OH)2D3, dentritik hücrelerin modülasyonu yoluyla ve doğrudan T hücrelerini hedefleyerek Treg hücre gelişimini destekler. Son olarak, 1,25(OH)2D3, plazma hücresi farklılaşmasını, IgG ve IgM üretimini ve B hücresi çoğalmasını bloke eder[7].

Düşük D vitamini seviyelerini artmış enfeksiyonla ilişkilendiren çok sayıda kesitsel çalışma yapılmıştır [79][80][81][82][83].Bu araştırmalarda serum D vitamini düzeyleri ve üst solunum yolu enfeksiyonları, influenza, bakteriyel vajinozis, HIV enfeksiyonları seyri ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Hepsi daha düşük D vitamini seviyeleri ve artan enfeksiyon oranları ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. D vitamini, etkili antibiyotiklerin ortaya çıkmasından evvel tüberküloz vb. enfeksiyonları tedavi etmek üzere (bilmeden) kullanılmıştır. Tüberküloz hastaları, güneş ışığına maruz kalması için sanatoryumlara

gönderilmiştir. Zengin bir D vitamini kaynağı olan morina karaciğeri yağı, tüberküloz tedavisi ve enfeksiyonlardan genel olarak korunma için de kullanılmıştır[84].

D vitamini eksikliğiyle multipl skleroz (MS), romatoid artrit (RA), diabetes mellitus (DM), inflamatuar bağırsak hastalığı, sjögren ile sistemik lupus eritematozus (SLE) dahil olmak üzere otoimmün hastalıkları birbirlerine bağlayan epidemiyolojik ispatlar artar [85]. Ayrıca D vitamini eksikliğinin mevcut otoimmün hastalığın ilerlemesini kolaylaştırdığı gösterilmiştir [86].

2.4.3.2.D Vitamininin Kemik Metabolizması ve Osteoporoz Üzerine Etkisi

Serum D vitamini seviyesi, iskeletin genel mineralizasyonunu, kemik döngüsü hızını ve kırıkların oluşumunu etkiler. Aktif D vitamini metaboliti olan 1,25 (OH)2 D, bağırsaktaki kalsiyum kanallarını açar, bağırsak hücresinde kalsiyum bağlayıcı protein oluşumunu uyarır ve böylece kalsiyum ve fosfatın bağırsaktan emilimini uyarır. Bu şekilde, kemik mineralizasyonu için en uygun koşullar yaratılır. D vitamini ve yeterli kalsiyum mevcut olduğunda mineralizasyon kendi içinde pasif bir süreçtir. D vitamini eksikliği durumunda, 1,25 (OH) 2D konsantrasyonu düşer ve kemik mineralizasyonu için daha az kalsiyum mevcut olacaktır. Buna bağlı olarak paratiroid hormonu (PTH) seviyesi artar. PTH etkisiyle 1- alfahidroksilaz enzimi aktive olur ve böbrekteki 25 (OH) D'nin hidroksilasyonunu 1,25 (OH) 2D'ye uyarır [87]. Serum 1,25 (OH) 2D normal referans aralığına ulaşır. Artmış 1,25(OH)2 D ve artmış PTH kemiklerden kalsiyum mobilize ederek kemik rezorpsiyonu pahasına serum kalsiyum düzeyini normal seviyelerde tutmaya çalışır. D vitamini eksikliğinin uzadığı dönemlerde kemik kaybı artar ve bu durum osteoporoza yol açabilir. Yüksek turnoverın olduğu kemik dokusu daha az mineralize olmuş osteoid doku içerir, çünkü kemik yüzeyinde normal şartlardan daha fazla yeniden şekillenme meydana gelir. Ek olarak, mineralize kemik daha az mineral içerir, çünkü osteonların ortalama yaşı daha azdır ve mineral osteon oluşumundan iki yıl sonra birikir. Uzun süredir devam eden ciddi D vitamini eksikliği durumunda, osteoid dokusunun hacmi %5'ten fazla birikir ve osteomalaziye yol açar[88]. D vitamini eksikliği olan hastalarda kemik kaybı esas olarak sekonder hiperparatiroidizme bağlıdır ve büyük ölçüde geri dönüşümsüzdür [89].

D vitamini eksikliği, çocuklarda raşitizme neden olabilir. [90][91]. Yetişkinlerde de osteopeni ve osteoporoza neden olabilir, ayrıca kırık riskini artırabilir[92][93]. D vitamini eksikliği, kompansatör hiperparatiroidizm ile birlikte, Parkinson hastalığı olan

hastalarda vertebra kırıkları ile ilişkilendirilmiştir [94]. Bours ve ark., kırıkla acil servise başvuruda bulunan 50 yaşın üzerindeki hastalarda, % 90'ının D vitamini yetersizliği veya eksikliğinin bulunduğunu ve bu tür hastaların birçoğunun D vitamini eksikliği veya yetersizliği de dahil olmak üzere bir veya daha çok ikincil osteoporoz nedeni olduğunu bildirmiştir [95][96]. Yeap ve ark. tarafından yapılan bir çalışma, sistemik lupus eritamatozuslu premenopozal kadınlarda, daha yüksek D vitamini seviyelerinin kemik-aktif ajanlara karşı kemik mineral yoğunluğu yanıtını optimize ettiğini ileri sürmüştür [97]. Diğer çalışmalar, yeterli D vitamini seviyelerinin, kalça ve omurgada bifosfonat tedavisine kemik mineral yoğunluğu yanıtını optimize ettiğini ileri sürmüştür [98][99].

D vitamini bunun yanı sıra inflamasyon üstündeki etkileri ile kemik metabolizmasını da etkileyebilmektedir. Birçok çalışma, D vitamininin kemik seviyeleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabilecek anti-enflamatuvar etkilere sahip olduğunu ileri sürmüştür, çünkü kronik inflamasyon kemik kaybına neden olabilir [8]. Kimi araştırmalar, azalmış serum D vitamini, artmış RANKL ekspresyonuyla osteoklastogenezisi uyaran proinflamatuar sitokinler (IL-6 ve TNF-α) arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır [100]. Vitamin D3'ün kemik mineral yoğunluğunun korunmasındaki önemi, farelerde 1-alfa hidroksilaz (CYP27B1) geninin hedefli delesyonunun artmış alveoler kemik kaybıyla interlökin-1β (IL1-β), tümör nekroz faktörü-α (TNF-α), matriks metalloproteinazlar 3 ile 8 (MMP-3 ve MMP-8) dahil olmak üzere pro-inflamatuar sitokinlerin üretiminde artışa neden olduğu yakın tarihli bir hayvan çalışmasında vurgulanmıştır[10].

2.4.3.3.D Vitamininin Periodontal Sağlık ve Hastalıktaki Rolü

D vitaminin periodontal sağlık ve hastalıktaki yeri; kemik metabolizması ve kemik yoğunluğuna etkisi, patojenlere karşı epitel savunmasındaki rolü, antibakteriyel, antienflamatuvar ve konak modülasyonundaki etkileri ile açıklanabilir.

Son zamanlarda araştırmalar, periodontal sağlıkla D vitamini ve kalsiyum alımı arasında anlamlı ilişkiler bulunduğunu ortaya koymuştur. Kalsiyumla D vitamini ile diyet takviyesi periodontal sağlığı iyileştirebilmektedir, mandibuladaki kemik mineral yoğunluğunu artırabilmektedir ve alveoler kemik rezorpsiyonunu inhibe edebilmektedir [101]. Garcia ve ark. kalsiyum ve D vitamini takviyesinin, günde 800-1.000 IU'dan daha yüksek dozlarda kullanıldığında periodontal hastalığın şiddetini azaltabileceğini bildirmiştir. Bunun yanı sıra, D vitamininin, kemikle kalsiyum homeostazındaki rolüne

ilaveten, bir antienflamatuar ajan şeklinde işlev gördüğünü, çünkü bağışıklık hücresi sitokin ekspresyonunu inhibe ettiğini ve monosit / makrofajların güçlü bir antibiyotik etkisine sahip moleküller salgılamasına neden olduğunu belirtmişlerdir [9].

D vitamininin periodontal sağlığın korunmasındaki kritik rolü, CYP27B1 (1-alfa hidroksilaz) geninin etkisiz hale getirildiği farelerde ligatür kaynaklı periodontitis, normal tip (WT) farelerde ligatür kaynaklı periodontitis ile karşılaştırıldığında ciddi alveoler kemik kaybı ve diş eti iltihabı ile sonuçlandığı bir çalışmada güçlendirilmiştir. Bununla birlikte, kalsitriolün eksojen olarak uygulanması, bu farelerde alveoler kemik kaybını ve diş eti iltihabını hafifletmiştir [102].

Hem insan diş eti hücreleri hem de periodontal ligament hücreleri , 25(OH)D'nin üretiminden sorumlu olan 25-hidroksilaz üretir [103]. Hücre zarı reseptörleri ile mikrobiyal etkileşimi takiben, 25(OH)D3, Kalsitriol üretmek için CYP27B1 yoluyla daha fazla hidroksillenir. Aktif hormon daha sonra bağışıklık ve epitel hücrelerinde VDR'ye bağlanır ve böylece patojene karşı epitel savunma mekanizmasına katılır [104]. Kalsitriol, monositler ve makrofajlarda 1-a-hidroksilazın ekspresyonunu otokrin bir şekilde kalsitriol üretmek üzere simüle ederek makrofaj kemotaktik ve fagositik aktivitelerini arttırmak için immün hücrelerde (monositler, makrofajlar, dendritik hücreler) VDR'ye bağlanır. Bu da lizozomal enzim aktivitesini ve fagositozu arttırır. Kalsitriol ayrıca diş eti epitel hücrelerinin VDR'sine bağlanır ve böylece istilacı patojenlere karşı epitel savunma mekanizmalarına katılır [105][106][107].

Vitamin D3 güçlü antibakteriyel ve LPS nötralize edici aktiviteye sahiptir [108]. P. gingivalis'in büyümesini direkt olarak inhibe edebilmektedir ve adezinler (fimA, hagA ve hagB) ile proteinazlar (rgpA, rgpB ve kgp) vb. kritik virülans etkenlerin ekspresyonunu seçici olarak inhibe edebilmektedir [109]. Ayrıca, P. gingivalis üzerindeki inhibitör etkisinin aktif otofaji yoluyla aracılık edebileceği gösterilmiştir [110]. Vitamin D3 , β-defensinlerle katelisinler dahil olmak üzere antimikrobiyal peptitlerin üretiminden de sorumludur[111][112].

D vitamininin fizyolojik ve farmakolojik etkilerin VDR'ler aracılığı ile gösterir. Spesifik VDR genotiplerinin periodontitis ile artmış alveoler kemik kaybı, klinik ataşman kaybıyla v diş kaybıyla ilişkili olduğu ortaya konmuştur [11][12][13].VDR genindeki Bsml ve Fokl polimorfizmlerinin genel popülasyonda periodontitis gelişme riskinin daha yüksek olması ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir [113]. VDR genindeki

polimorfizmlerin varlığı ile periodontitis arasındaki bu ilişkiler, D vitamininin periodontal sağlıktaki rolünü desteklemektedir.

2.4.3.4.D Vitamininin Diğer Dokulara Etkisi

D vitamininin kemik metabolizmasının yanında, pek çok kanser türünün, otoimmün, kardiyovasküler ile enfeksiyon hastalıklarının engellenmesinde rolünün bulunduğu birçok araştırmada anlatılmıştır [114][115][116].

VDR ile 1-α hidroksilaz aktivitesi miyokard ve damar duvarında belirtilmiştir. Gözleme dayalı araştırmalar düşük vitamin D seviyeleriyle kan basıncı, koroner arter kalsifikasyonuyla kardiyovasküler hastalık varlığı arasında ilişkinin bulunduğunu ortaya koymuştur [117]. Çalışmalar suboptimal vitamin D düzeylerinin kardiyovasküler hastalık riskinde artış ile ilgili olduğunu ortaya koymaktadır [118].

D vitamini alımının artmasının kronik hastalık gelişme riskini azalttığını gösteren bilimsel kanıtlar artmaktadır. D vitamini alımının artmasıyla tip1, tip 2 diyabet ve romatoid artrit gelişme riskinde azalma olduğu gözlenmiştir [119][120]. Relaps ve remisyonlar ile ilerleyen multiple skleroz hastalarında relapslar sırasında daha düşük D vitamini düzeylerinin saptandığı bildirilmiştir[117].D vitamininin bakteriosidal bir protein olan kathelisidinin gen ekspresyonu artırması tüberküloz ve diğer enfektif hastalıkların tedavisindeki rolünü açıklamaktadır [121]. Hipokampusta VDR'lerin varlığı ve D vitamininin antioksidan etkisi D vitamini eksikliği ile depresyon ve azalmış kognitif fonksiyonla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim 225 alzheimer hastası ile yapılan bir araştırmada serum vitamin D düzeyleriyle hastaların Mini Mental Durum Değerlendirme skorları arasında korelasyona rastlanmıştır [117].

Meme, kolon, prostat kanser hücreleri ve lösemik hücreler vb. birkaç değişik kanser hücresi VDR bulundurmaktadır. D vitaminin söz konusu hücreler üstünde inhibitör tesiri bulunmaktadır. Tesiri mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber hücresel siklusun düzenlenmesi, diferansiyasyonun stimülasyonu, büyüme stimülasyonunun bozulması, anjiogenezisin inhibisyonu, malign hücrelerin artmış apopitozisi şeklinde izah edilmektedir. Hayvan modelleriyle bireylerdeki gözleme dayalı araştırmalar D vitamininin kanserin önlenmesiyle sağ kalımda yararları olduğunu göstermektedir [117].

2.4.4.D Vitamini Eksikliği

Vücudun D vitamini durumunu ortaya koyan en iyi ölçüt serum 25(OH) D seviyesidir. 25(OH)D'nin optimal düzeyine ilişkin görüş birliği bulunmamakla beraber, kılavuzların birçoğu D vitamini'nin: 20 ng/ml'nin (50 nmol/L) üstünde olmasını yeterli, 10 ile 20 ng/ml (25-50 nmol/L) arasındaki seviyesi yetersizlik, 10 ng/ml'nin (25 nmol/L) altındaki seviyesi eksiklik şeklinde kabul etmektedir [122][123][124][125]. 25(OH) D düzeyi >100 ng/ml (>250 nmol/L) olan ve önemli miktarda kalsiyum tüketmekte olan bireylerde vitamin D toksisitesi riski artmıştır. 25(OH) D seviyesi >150 ng/ml olduğu durumlarda vitamin D intoksikasyonundan söz edilebilir [126].

D vitamini eksiklik veya yetersizliği, tüm dünyada bir milyar insanı içeren yaygın bir rahatsızlık şeklinde kabul edilmektedir. D vitamini eksikliği prevalansı, kadınlarda, yaşlılarda, etnik azınlıklarda ve güneşin daha az olduğu kuzey bölgelerde daha çok görülmektedir[127].

2.4.4.1. D Vitamini Eksikliğinin Belirlenmesi

25(OH)D'nin kandaki düzeyi, D vitamini seviyesini tespit etmek üzere en ideal metottur. D vitaminin dolaşımdaki ana formu 25(OH)D'dir ve yarı ömrü 2-3 haftadır. Kandaki 25(OH)D miktarı, oral yol olarak ve UV ışığı ile ciltten alınmış olan toplam D vitamini miktarını ortaya koyar [91]. 1,25(OH)2D biyolojik bakımdan etkin form olmasına karşın D vitamini seviyesinin tespit edilmesinde güvenilir değildir. Çünkü yarı ömrü 4-6 saattir ve dolaşımdaki düzeyi 25(OH)'den 1000 kat düşüktür. Bunun yanı sıra, D vitamini yetersizliği bulunan yetişkinlerle çocuklarda da, genel olarak PTH salınımına dayalı olarak, 1,25(OH)2D3 seviyeleri normal veya yüksek tespit edilir [91][128]. Kronik böbrek yetmezliği, genetik fosfat kaybettiren hastalıklar, onkojenik osteomalizi, vitamin D dirençli raşitizm vb. hallerde vitamin D eksikliğinin etyolojik teşhisi açısından ve granülomatöz rahatsızlıklarda 1,25-dihidroksi vitamin D ölçümü yapılması önerilmektedir [129][130].

25(OH) vitamin D ölçümü için en güvenilir olan ve tavsiye edilen metotlar, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ((High Performance Liquid Chromatography, HPLC), sıvı kromatografi/ kütle spektrometre (liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/ MS) metotlardır [129][130][131].

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Çalışma Grubu, vitamin D durumunu değerlendirmek üzere serum 25(OH) D seviyesinin ölçülmesini önermektedir. Vitamin D eksikliğinin yaygınlığına karşın toplumsal tarama tavsiye edilmemektedir. 25(OH) vitamin D eksikliği açısından yüksek riskli olanların değerlendirilmesi önerilmektedir [132].

2.4.4.2. D Vitamini Eksikliğinin Nedenleri ve Risk Faktörleri

D vitamini eksikliğiyle ilgili olarak risk altında bulunanlar; gebeler, çocuklar, yaşlılar, bakımevlerinde yaşamını sürdürenler ve Avrupalı olmayan göçmenlerdir [91][133]. Çocuklarla yetişkinler için D vitaminin temel kaynağı güneş ışığına maruz kalır [91][134]. Mesela; klasik hayat tarzları ile Tanzanya'daki (Doğu Afrika) Maasai ile Hadzabe kabilelerinde, yüksek seviyede tropikal güneş ışığına dayalı olarak D vitamini eksikliğine rastlanmamaktadır [135].D vitaminin ciltteki üretimini pek çok etken etkilemektedir. SPF 30 ve daha yüksek güneş kremlerinin kullanımı, ciltte D vitamini üretimini %99'dan %95'e dek azaltmaktadır. Artmış melanin pigmentasyonundan dolayı tabii güneş kremi koruyuculuğu bulunan esmer tenli bireyler, beyaz bireyler ile karşılaştırıldığı zaman, ciltlerinde D vitamini üretimi %90 daha az verimlidir [136]. Ayrıca artmış ozon ile nitrojen dioksitle (her ikisi de farklı sağlık sorunlarına neden olduğu bilinen) hava kirliliği, UVB radyasyonu emmektedir. Bu da hipovitaminoz için genel olarak ihmal edilen bir risk etkenidir [134][137]. D vitamini eksikliği için mühim risk etkenleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5: D vitamini eksikliği için risk faktörleri[116]

Güneşe yetersiz maruz kalma	Kapalı alan Kapalı giyinme Güneşten aşırı korunma (gölge, güneş kremi) Hava kirliliği Güneş ışınlarına camın arkasından maruz kalma
Fizyolojik faktörler	Koyu tenli olma Malabsorbsiyon Obezite Karaciğer/Böbrek hastalığı Emzirme Gebelik Yaşlılık
Düşük ortam UVR değeri	Yüksek enlemler Kış mevsimi UV ışınlarının pik saatleri dışı (10am-3pm)
Düşük D vitamini alımı	Düşük D vitamini takviyesi Laktoz intoleransı Sosyoekonomik durum Diyetle alınan D vitaminin düşük olması
İlaçlar	Antikonvülzan ilaçlar, Rifampin, Antiretroviral tedavi, Glukokortikoidler

D vitamini eksikliğiyle yetersizliğinin prevalansı, mevsimsel değişimlerden ve enlemden etkilenmektedir[116]. Prevalans, kış sonuyla ilkbaharda artarken yaz mevsiminde azalmaktadır [74]. Eğitim durumunun D vitamini seviyesiyle ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmanın neticesinde, eğitim seviyesi düşük kadınların, eğitim seviyesi yüksek kadınlar ile karşılaştırıldığı zaman daha düşük 25(OH)D düzeyine sahip olduğu ve çok düşük D vitamini düzeyine sahip kadınların bebeklerinin az doğum ağırlığı riski taşıdığı belirtilmiştir [138].

Bilhassa yaşlı nüfus, düşük D vitamini seviyesiyle ilişkili olarak klinik komplikasyonlar için riskli bir gruptur. Artan yaşla, giysi ve daha az açık hava etkinliği vb. hayat biçiminden dolayı güneşe maruziyet genel olarak azalmaktadır. Diyetle daha az tabii D vitamini alınabilmektedir. Yaşlı insanların derilerinde D vitamini prekursorü 7-dihidrokolesterol azalır. Ayrıca ciltteki atrofik değişikliklerden dolayı D vitamininin derideki üretiminin yaş ilerledikçe azaldığı belirtilmektedir [139][140]. 8-18 yaşlarındaki kişilerin ciltlerinde previtamin D3 üretim miktarının, 77-82 yaşlarındaki

kişilerin derilerinde üretim miktarıyla karşılaştırıldığında yaşlanmayla previtamin D3 üretiminin 2 kattan daha fazla azaldığı görülmüştür [140].

2.4.4.3. D Vitamini Eksikliğinde Görülen Belirtiler ve Bulgular

D vitamini eksikliği olan pek çok kişide klinik olarak herhangi bir belirti gözlenmez. Erişkinlerde uzun dönem D vitamini eksikliği sonucu iskelet-kas sisteminde ağrı ve güçsüzlükle seyreden osteomalaziye neden olabilir. Bu kişilerde genellikle serum 25(OH)D, kalsiyum ile fosfor düzeyleri düşükken alkalen fosfataz ve PTH değerleri yüksektir. DEXE ve direkt grafilerle yapılan radyografik incelemelerde kemik dansitesinde azalma ve kemik kırıkları izlenir. Biyopsi klinik olarak sıklıkla gerekmese de yapılan biyopsilerde kemik mineralizasyonunda azalma gözlenir[141].

Çocuklarda D vitamini eksikliği çoğu kez klinik belirti vermese de şiddetli eksiklik durumunda hipokalsemiye bağlı tetani, kraniyaotabes, kosta tesbihleri, kuş göğsü, tibiada eğrilik, kifoskolyoz ile diş çıkmasında gecikme vb. bulgular gözlenebilir. D vitamini eksikliğine bağlı rickets her çocukta değişen sürelerde görülür[142].

D vitamini eksikliği olan hastalarda, büyüme plağının gelişiminde yetersizlik, mineralizasyonunda azalma, kemik dansitesinde azalma ve serum kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) seviyesindeki dengesizlikler bağlı olarak çeşitli klinik bulgular gözlenir. Bir grup hasta tamamen klinik olarak bulgu vermezken, bazı hastalar hipokalsemik nöbet ile başvururken kimisi psödohipoparatiroidiye benzer hipokalsemi ile beraber hiperfosfatemi bulguları görülmektedir [143]. D vitamini eksikliğinin klinik bulgu vermemesi çocukluk ve ergenlik döneminde ciddi bir sorundur [144]. Bu nedenle riketsin teşhisi için serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz, PTH ve 25(OH)D ölçümleri takip edilmeli ve çocuklarda ve ergenlerde femur boynu ve bel bölgesinden DEXA ile kemik mineral ölçümü yapılmalıdır [143][145].

2.4.5.D Vitamini Kaynakları

D vitaminin ana kaynağı cilt yoluyla sentezidir. Diyet ile alınan D vitamini genellikle yetersizdir çünkü D vitamini içeren gıdalar genellikle çoğu diyet düzeninin günlük bir parçası değildir. Bu nedenle, güneş ışınlarından sınırlı miktarda yararlanma nedeniyle D vitamini eksikliği yaşayan veya kutanöz D vitamini sentezi azalmış (örneğin, yaşlı yetişkinlerde) kişilere genellikle D vitamini takviyeleri reçete etmek gerekir [146].

Cilt yüzeyinin yaklaşık ¼'ü (yüz, eller ve kollar) üzerinde minimum eritematik dozun (MED) % 25'ine denk gelen UV radyasyonuna maruz kalmak, kutanöz yolla 1000 IU kolekalsiferol üretilmesini sağlamaktadır [147]. Yaz aylarında öğlen saatlerinde tüm vücut boyunca 15 dakikalık güneşe maruz kalma (yaklaşık 1 MED) ise 10.000 IU (250 µg) D vitamini eşdeğeridir [148]. Bununla birlikte, yaş, ten rengi, mevsimsel durum, coğrafi koşullar, yaşam şekli, güneş kremi kullanımı gibi bazı etkenler D vitamini sentezleme kapasitesini etkileyebilir[149][150][151]. Ekvatora yakın yerlerde yaşayan kişilerin ortalama 25(OH)D kan düzeyleri 40-60 ng/ml dolayındadır. Söz konusu bireylerin ciltleri uygun D vitamini üretecek ve melanoma vb. ölümlere neden olabilecek cilt kanseri çeşitlerinden insanları koruyacak özelliklere sahiptir. Güneş kremi ve artmış cilt pigmentasyonu (yani, daha yüksek melatonin içeriği), cilt yoluyla D3 vitamini sentezini %90'a kadar azaltabilir. Yaşlı yetişkinlerde, D vitamini kutanöz sentezi, özellikle kış aylarında ve kuzey enlemlerinde %75'e kadar azalabilir. Ayrıca, yaşlılıkta, renal hidroksilasyon azalır. Bu nedenle, yaz aylarında optimal D vitamini değerlerine sahip bir hastanın kış aylarında eksiklik aralığında değerler sunabileceği göz önünde bulundurulmalıdır[152]. Ciltteki melanin miktarı, UV ışınlarını emerek, güneş ışığının D3 vitamini üretmedeki etkinliğini azaltabilir. Bu, ılıman enlemlerde yaşayan siyah ırk bireylerinin neden daha düşük D vitamini seviyelerine sahip olduğunu açıklamaya yardımcı olur. Güneş ışığına maruz kalma ile melanin üretiminin artması, aşırı D3 vitamini üretiminin önlenebileceği başka bir mekanizma sağlar. Bununla birlikte, uzun süreli UVB ve UVA ışınlarına maruz kalmak güneş yanığı ve DNA hasarına yol açar [151][153].

Ne kadar güneş ışığına maruz kalmanın güvenli ve etkili olduğu konusunda bir fikir birliği yoktur. Biyolojik olarak etkili UVB güneş ışınları kışın önemli ölçüde azalır (4 kata kadar) ve öğlen saatlerinde daha fazladır. Atmosferin ozon tabakasının incelmesi, D vitamini sentezinin artmasına katkıda bulunabilir, ancak cilt kanseri gelişme riskini artıran bir durumdur[151].

D vitamininin besin kaynakları esas olarak hayvansal kökenlidir (kolekalsiferol); D vitamini mantarlardan, yani bitki kökenli (ergokalsiferol) de elde edilebilir. D vitamini yağda çözünür olduğundan, emilimi için safra tuzları gerektirir. D vitaminin kana taşınması için duedonumda şilomikronlar ve miseller oluşur. Bu, inflamatuar bağırsak hastalıkları, pankreas yetmezliği, çölyak hastalığı, kistik fibrozis, kolestatik karaciğer

hastalıkları ve kısa bağırsak sendromu gibi malabsorpsiyon hastalıkları olan hastalarda D vitamini eksikliğinin görülme sıklığının yüksekliğini açıklamaya yardımcı olur [154][155][156][157]. Gıdalardaki D vitamini içeriği oldukça kararlıdır, ancak D vitamini bakımından zengin gıdalar genellikle sık sık tüketilmediği için katkı düşüktür. D vitamininin en zengin besin kaynakları yağlı balıklar, yumurtalar, güneşte yetişen mantarlar, karaciğer ve diğer sakatatlardır. Bazı ülkelerde, diyet D vitamininin ana kaynakları, esas olarak ergokalsiferol veya kolekalsiferol ile zenginleştirilmiş süt (veya bitkisel kökenli), tereyağı, margarin ve kahvaltı gevrekleri kullanılan takviye edilmiş gıdalardır. Yiyecekleri D vitamini ile takviye etme seçeneği yararlı görünmektedir, ancak tüketimi oldukça değişkendir. Bu nedenle, D vitamini eksikliğini azaltmaya katkısı belirsizdir.

2.5.Matriks Metalloproteinazlar

"Matriksinler" şeklinde de isimlendirilen matriks metalloproteinazlar (MMP); ekstrasellüler matriks çinko içeren, kalsiyum bağımlı homolog bir enzim ailesidir[158]. MMP'ler; proteinazların 5 alt sınıfından birisi olan metalloproteinazlar enzim ailesindendir. MMP'ler fibroblastlar, epitel hücreleri, osteoblastlar, osteoklastlar, nötrofiller ve makrofajlar tarafından latent formda (proenzim) üretilir. Latent MMP'ler etkin olarak matriks yıkımına yol açar [159]. MMP'ler sağlıklı dokularda düşük seviyede sentezlenir. Farklı hormonlar, büyüme faktörleriyle proenflamatuvar sitokinler MMP'lerin aktivasyonunu artırmaktadır [160]. MMP'ler doku tekrardan yapılanması, morfogenezis, yara iyileşmesiyle normal gelişimsel proses vb. fizyolojik durumlarda kritik role sahip oldukları vb. tümör hücresi invazyonu, anjiyogenezis ile metastaz vb. patolojik proseslerde de bulunurlar [158][161][162].

2.5.1.Matriks Metalloproteinazların Yapısı ve Sınıflandırılması

Matriks metalloproteinazlara ilişkin ilk bilgiyi Jerome Gross ile Charles Lapiere 1962 senesinde yayımlamıştır. MMP'lerin molekül ağırlıkları 19-92 kDa arasında değişir [163]MMP ailesini kodlamak üzere 24 değişik gen vardır. Bunlar 5 değişik gen bölgesi ile kodlanır. Bunlar; Sinyal peptid, propeptid, katalitik bölge (çinko bağlama bölgesi içerir), kanca bölgesiyle hemopeksina benzer bölgelerdir. Bunlardan sinyal peptid, propeptid ile katalitik bölge tüm MMP'lerde vardır. Gen bölgeleri N-terminal uç ile başlayarak C-terminal uç ile sonlanır [164]. N-terminal uçtaki propeptid 80 amino asit içerir. Söz konusu bölgenin proteolitik olarak ortadan kaldırılması ile MMP'ler

aktifleşir. Propeptid bölgesindeki sistein rezidüsü MMP'lerin inaktif kalmasında önemli role sahiptir. Sistein rezidüsü içermiş olduğu sülfidril grubu ile proMMP'lerin aktif hale gelmesini önlemek üzere katalitik bölgedeki çinkoyla bağlanmaktadır. Bu duruma "Sistein switch" denir [165]. Sinyal peptid de hücreden salınımı kontrol eder. Katalitik Bölge; 180 amino asitten oluşur. İçermiş olduğu histidin rezidüleri çinko (Zn+2) iyonu için üç farklı bağlanma bölgesini oluşturur. İnaktif MMP'lerdeki propeptid bölgesindeki sistein rezidüsü de çinko iyonu için 4. bir bağlanma bölgesidir. Katalitik bölge üç alfa heliksinden ile bükülmüş beş iplikli beta tabakadan oluşur. Hemopeksin benzeri bölgeyse substrat orijinalliğinin devamıyla ve endojen inhibitörlerle bağlanmayı sağlamaktadır [166].

En basit MMP olan MMP-7 de (matrilizin), sinyal peptid, propeptid ile çinko bağlayıcı bölgeyi içeren katalitik bölge olarak 3 bölge vardır. Kollajenaz ile stromelizinler söz konusu 3 bölgeye ilaveten katalitik bölgeye köprü bölgesi ile bağlanmış olan, hemopeksin benzeri bölge içermektedir. Hemopeksin benzeri bölge; MMP'lerin integrinler, hücre yüzey reseptörleriyle doku inhibitörleri vb. öteki proteinlere bağlanmasını sağlar [165]. Jelatinazlar de katalitik bölgelerinde denatüre kollojenlere bağlanmayı temin eden 3 tekrarlı fibronektin bölgesi içermektedir. Membran tip MMP'ler (MT-MMP) hemopeksin benzeri bölgede söz konusu yapılara ilaveten kısa sitoplazmik kuyruğu bulunan, transmembran bölge içermektedir. MT-MMP'ler hücre yüzeyine söz konusu transmembran bölgeyle ya da glikozilfosfotidil inozitol kancasıyla bağlanır. Bunun yanı sıra MT-MMP'ler propeptid ile katalitik bölge arasında, fürin-yarığı denen furin-tip konvertazların etkide bulunduğu bir bölge içerir. Söz konusu bölge proenzimlerin intrasellüler aktive olmasından sorumludur[158].

MMP'ler yapısal olarak incelendiği zaman; 17-29 aminoasit içeren sinyal peptit bölgesi, 77-87 aminoasit içeren amino terminal propeptit bölgesiyle 170 aminoasit içeren katalitik bölgeden oluşmaktadır. Katalitik bölgenin aktif merkezinde çinko atomuyla çinko atomuna bağlı korunan sistein aminoasidi bulunmaktadır. Katalitik bölge ayrıca çinko-bağlayıcı bölgeyle korunmuş metiyonin aminoasidi içermektedir. Söz konusu bölge, MMP'lerin kararlılığıyla enzimatik aktivasyonunu korumak üzere katalitik çinko atomuna ilaveten yapısal çinko atomuyla 1 veya 3 adet kalsiyum atomu da içermektedir [15][163].

MMP'ler substrat niteliğine, bölge organizasyonuyla dizi homolojisine dayalı olarak, kollajenazlar, jelatinazlar, stromelizinler, matrilizinler, MT-MMP (Membran tipi MMP)'ler ve diğer MMP tipleri olarak 6 gruba ayrılır [16][167].

Tablo 6: Matriks Metalloproteinaz Tipleri

Kollajenazlar	MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18
Jelatinazlar	MMP-2 ve MMP-9
Stromelizinler	MMP-3 ve MMP-10
Matrilizinler	MMP-7 ve MMP-26
MT-MMP'ler	MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24 ve MMP-25
Diğer MMP'ler	MMP-11, MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-22, MMP-23 ve MMP-28

Tablo 7:MMP'lerin etki ettiği substratlar (ekstrasellüler matriks bileşenleri)

MMP Alt Tip	Proteaz İsmi	Biyoaktif Substratlar	Aktive Edilen proMMP
MMP-1	Kollojenaz (intersitisyel kollojenaz)	Pro IL-1β, pro-TNF-α, IGFBP-2,-3,-5, SDF-1, MCP-1,-2,-3,L-selektin, perlekan, α1-proteinaz inhibitörü, α1- antikimotripsin, α2-makroglobulin	proMMP-1 proMMP-2
MMP-2	Jelatinaz A (72kDa jelatinaz)	Pro IL-1β, pro-TNF-α, pro-TGFβ, IGFBP3,-5, FGFR-1, SDF-1, MCP-3, dekorin, α1-proteinaz inhibitörü, α1-antikimotripsin, α2-makroglobulin	proMMP-1 proMMP-2 proMMP-13
MMP-3	Stromelizin-1	Pro IL-1β, pro-TNF-α, pro-HB-EGF, IGFBP-3, SDF-1, MCP-1,-2,-3,-4, E-Kaderin, L-selektin, perlekan,dekorin, endostatin, plazminojen, , α1-proteinaz inhibitörü, α1-antikimotripsin, α2- makroglobulin, antitrombin III	proMMP-1 proMMP-3 proMMP-7 proMMP-8 proMMP-9 proMMP-13
MMP-7	Matrilizin	pro-TNF-α, pro-α-defensin, pro-HB-EGF, FasL, E-Kaderin, β 4 integrin, dekorin, endostatin, plazminojen, α1-proteinaz inhibitörü, α2-makroglobulin	proMMP-1 proMMP-2 proMMP-7 proMMP-9
MMP-8	Kollojenaz-2 (nötrofil kollojenaz)	pro-TNF-α, IGFBP, MCP-1, IP-10, MIG, LIX, L-selektin, α1-proteinaz inhibitörü, α2-makroglobulin, α2-antiplazmin	proMMP-8
MMP-9	Jelatinaz-B (92kDa jelatinaz)	Pro IL-1β, IL2Rα, pro IL-8, pro-TNF-α, pro-TGFβ, IFN-β, FGFR-1, SDF-1, endostatin, plazminojen, α1-	proMMP-2 proMMP-9 proMMP-13

		proteinaz inhibitörü, α2-makroglobulin, KISS-1/metastin	
MMP-10	Stromelizin-2		proMMP-1 proMMP-8 proMMP-10
MMP-11	Stromelizin-3	IGFBP-1, α1-antitripsin, α1-proteinaz inhibitörü, α2-makroglobulin	
MMP-12	Metalloelastaz (makrofaj elastaz)	pro-TNF-α, plazminojen, endostatin, α1-proteinaz inhibitörü	
MMP-13	Kollojenaz-3	pro-TNF-α, SDF-1, MCP-3, endostatin, α1-antikimotripsin, α2-makroglobulin	proMMP-9 proMMP-13
MMP-14	MT-1MMP	pro-TNF-α, CD44, SDF-1, MCP-3, doku transglutaminazı, sindekan, α1-proteinaz inhibitörü, α2-makroglobulin, KISS-1/metastin	proMMP-2 proMMP-8 proMMP-13 proMT1-MMP
MMP-15	MT-2MMP	pro-TNF-α, doku transglutaminazı	proMMP-2 proMMP-13
MMP-16	MT-3MMP	pro-TNF-α, doku transglutaminazı, sindekan, KISS-1/metastin	proMMP-2 proMMP-13
MMP-17	MT-4MMP	pro-TNF-α	proMMP-2
MMP-24	MT-5MMP	KISS-1/metastin	proMMP-2 proMMP-13
MMP-25	MT-6MMP (lökolizin)	α1-proteinaz inhibitörü	proMMP-2 proMMP-9
MMP-26	Matrilizin-2 (endometaz)	IGFBP-1, α1-proteinaz inhibitörü	proMMP-9

MMP'lerin etkileri 3 farklı yolla düzenlenir:

1. MMP ekspresyonunun transkripsiyonel düzenlenmesi

Sitokinler, büyüme faktörleriyle hormonlar vb. pek çok faktör MMP transkripsiyonu düzenler. Bunlar arasında IL-1α ile IL-1β, TNF-α, TGF-α, TGF-β ile epidermal büyüme etkeni en etkisidir. Transkripsiyon etkeni olarak tanımlanmış olan aktivatör protein-1 (AP-1) MMP haricinde farklı sitokinleri ile büyüme etkenlerini indüklemektedir [168]. A-bağlı protein-3 (PEA-3), MMP'lerin transkripsiyonel aktivasyonuyla düzenlenmesinde kritik role sahiptir [169][170].

2. Proenzim aktivasyonu

MMP'ler intrasellüler ya da ekstrasellüler yollar ile olmak üzere, sistein-çinko bağlantısının (Cys-Zn++) kırılmasıyla aktifleşir [171]. ProMMP'nin sistein bölümü, aktif sahadaki Zn++'ya bağlanıp enzim aktivasyonunu bloke etmektedir. Söz konusu bağlantının çözülmesine, yani Cys'in çinkodan ayrılmasına, "Cysteine-switch" denir. Söz konusu mekanizma izah edilememiştir [172].

Proenzim aktivitesi esnasında ilk etkileşim öteki MMP'ler, serin proteinazlar, katepsin G ile plazmin içeren proteinazlarla bakteriyel proteinazlarca indüklenmektedir. Cys-Zn++ ilişkisinin bozulmasının ardından Zn++ H2O'yle ilişkiye girmektedir. ProMMP'nin değişmesi ara formasyona yol açar. Nihai aşamada MMP'nin ara formu otokatalitik olarak parçalanıp tamamıyla aktif formları meydana gelir [171].

Hücrenin yüzeyi yolu ile aktivitesi, proMMP'nin MMP-14 ya da plazminle (9) etkileşiminin sonucunda oluşur [173][168]. Plazmin, prokollagenaz ile prostromelizini etkin form haline getirir. Aktif stromelizinse, interstisyel kollagenazın etkinliğini 5-8 kat artırarak söz konusu enzimi aşırı aktifleştirir [174]. Hücrenin yüzeyinde MMP-14-MMP doku inhibitörü-2 kompleksinin proMMP-2 için reseptör şeklinde işlev gördüğü düşünülür [175]. Kimi MMP'lerse (MMP-11, -14, -28) hücre içerisinde aktifleşir. ProMMP aktif MMP'ye dönüştüğü zaman N-terminal propeptid tesir sahasının uzaklaştırılmasından dolayı molekülün total ağırlığı azalır [176].

3. MMP'lerin spesifik doku inhibitörleriyle inhibisyonu

MMP'lerin serum içindeki inhibitörü α2-makroglobulin, doku içerisindeki inhibitörüyse matriks metalloproteinaz doku inhibitörü (tissue inhibitors of metalloproteinase) (TIMP) şeklinde adlandırılır. MMP aktivasyonunu TIMP hücrenin etrafında, α2-makroglobulinse vücut sıvılarında kontrol etmektedir. Enflamasyon esnasında α2-makroglobulin damar duvarını kat edip esktrasellüler matrikse ulaşmaktadır ve proteinazla kovalent bağlar yapıp enzim aktivasyonunu baskılamaktadır. Söz konusu kompleks karaciğer yolu ile atılmaktadır [177].

TIMP'ler, 21-28 kDa ağırlığında, bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinin temeli olan küçük proteinlerdendir [160]. Birçok dokuyla vücut sıvılarında bulunur ve MMP'lerin etkin çinko bağlayıcı bölgesine bağlanıp aktivasyonunu bloke eder [165].

TIMP, MMP aktivasyonunu proenzim aktivasyonu aşamasıyla substrat parçalanması esnasında regüle eder [178]. TIMP ailesinin 4 üyesi vardır. TIMP-1, -2, -3 ve 4, vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleriyle makrofajlarca sentez edilir. MMP ile TIMP arasındaki oran farklı fizyolojik ve patolojik proseslerde değişmektedir ve bu sayede bunlar arasındaki denge farklı patolojik durumların patogenezinde mühim bir role sahiptir [177].

2.5.2.Matriks Metalloproteinazlar ve Periodontal Doku Yıkımı

MMP'ler, bağ dokusu homeostazıyla periodontal hastalıkların patogenezinde merkezi bir role sahiptir ve periodontitis ile alakalı geniş biyolojik tesirlere sahiptir. Matriks metalloproteinazlar periodontal doku hasarında kilit role sahiptir ve periodonsiyumda fibroblastlar, keratinositler, endotel hücreleri, osteoklastlar, nötrofiller ile makrofajlarca salgılanır. MMP'ler A.a ile P. gingivalis vb. kimi periodontal patojenlerce üretilmektedir, fakat bakteriyel bakımdan üretilmiş olan söz konusu MMP 'lerin periodontal hastalık patogenezine etkileri nispeten azdır. Periodontal dokularda yer alan MMP aktivasyonunun önemli bir kısmı konak enflamatuvar hücrelerinindir [17]. Doku yıkımıyla alakalı en yaygın MMP türleri kollajenaz ailesinden MMP-8, MMP-13 ile MMP-9 ve MMP-14'tür.

MMP-8, periodontal yıkım için kritik olan tip I ve III kollajeni parçalama özelliğine sahiptir. Rai ve ark.(2008) tarafından yapılan bir çalışmada periodontitis ve gingivitis hastalarında artmış tükürük MMP-8 düzeylerinin klinik parametrelerle anlamlı korelasyon gösterdiği bulunmuştur ve bu da MMP-8'in periodontal yıkım için gerekli tip I ve III kollajeni bozma yeteneğine bağlanabilir[179]. Romanelli ve ark. (1999), periodontitisli hastaların diş eti oluğu sıvısında nötrofil kollajenaz aktivitesini belirlemiş ve kollajenaz aktivitesinin periodontal hastalığın şiddeti ile pozitif ilişkili olduğu ve MMP-8'in aktivitenin çoğunu oluşturduğu sonucuna varmışlardır. MMP-8'in diş eti oluğu sıvısındaki baskınlığı, inflamatuar yanıtın bir parçası olan polimorfonükleer nötrofillerin (PMN'ler) sayısının artmasıyla korelasyon göstermiştir, bu da nötrofil aşırı duyarlılığının periodontal hastalıklarda doku yıkımına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir [180]. Artmış MMP-8 ekspresyonu, periodontal dokularda kollajen yıkımı da dahil olmak üzere ekstrasellüler matriks ve bazal membran bileşenlerinin yeniden şekillenmesi ile ilişkilidir. Plazma, diş eti oluğu sıvısı, tükürük gibi örneklerin incelendiği pek çok çalışmada periodontal yıkım ile uyumlu artmış MMP-8 seviyeleri

gözlenirken, cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası bu seviyelerin azaldığı sonucuna varılmıştır [180][181][182][183].

Matriks metalloproteinaz-13, periodontal hastalıklarda potansiyel bir role sahip olan kollajenaz ailesinin bir başka üyesidir. Kemik rezorpsiyonunu başlatabilirler ve in vitro olarak pro-MMP-9'u aktive edebilirler ve kronik periodontitis ile ilişkili doku yıkımında rol oynarlar [184][185][22].MMP-2 jelatinazlar grubunun bir üyesidir ve diş eti fibroblastları tarafından salgılanır. Periodontitisli hastalarda oral sıvılarda MMP-2 konsantrasyonun arttığı , ataşman kaybı ve sondalamada kanama ile bu artışın korelasyon gösterdiği ve periodontal tedaviden sonra bu seviyenin azaldığı pek çok çalışmada gösterilmiştir [179][161][181][22]. MT1-MMP(MMP-14), kollajen yeniden şekillenmesinde rol oynamakla beraber MMP-13 ve MMP-2 gibi diğer MMP'leri de aktive ederek doku döngüsü için proteolitik potansiyeli artırabilir. MMP-14 ayrıca hücre sinyalizasyonunda ve inflamatuar yanıtın düzenlenmesinde de rol oynar. Periodontitisli hastalarda inflamasyonlu dokularda artmış MMP-14 ekspresyonu gösterilmiştir [186][187][188].

TIMP’ler, MMP’lerin ekstrasellüler matriks yıkımını sınırlayarak aktivasyonunu engeller ve düzenler. MMP’ler ve TIMP’ler arasındaki denge periodontal dokuların sağlıklı idamesinde önemlidir ve herhangi bir dengesizlik durumunda periodontal dokuların yıkım süreci başlar. Artan MMP ve azalan TIMP seviyeleri bağ dokusu ve alveol kemiğinden kollajen degradasyonunun başlamasından sorumludur. Periodontitisli hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla oral sıvılarda ve dokularda TIMP seviyelerinin azaldığı görülmüştür [186][189][188][187].

2.5.3.Matriks Metalloproteinaz-9

Matriks Metalloproteinaz-9 MMP'lerin jelatinaz alt ailesine ait bir enzimdir ve bu nedenle temel substratı jelatindir. MMP-9, keratinositler, monositler, doku makrofajları, polimorfonükleer lökositler ile farklı malign hücreler dahil farklı hücre tiplerince üretilmektedir.

MMP-9’un yapısı incelendiğinde 7 bölge izlenir. Bunlar [190][18][19]:

1)Sinyal peptid alanı: MMP'leri endoplazmik retikuluma yönlendiren N terminal alanı.

2)Pro-domain: İnaktif formadaki MMP'lerde bulunur. Bu dizilimdeki sistein (Cys), pro-MMP'lerin inaktif formunu korumak için katalitik çinkoyu (Cys içindeki sülfhidril

grubu aracılığıyla) bağlar. Çıkarıldığında enzim aktive edilir. Bu işleme "sistein anahtarı" denir.

3)Katalitik alan: Çinko bağlanma bölgesi, bir kalsiyum iyonu ve korunmuş bir metiyonin dahil olmak üzere katalitik bölgeleri içermektedir. Bunlar MMP'nin 3 boyutlu yapısı, kararlılığı ile enzimatik aktivasyonları için gerekmektedir.

4)Hemopeksin benzeri etki alanı: C terminal alanı. Substrat bağlanmasında ve/veya TIMP'lerle etkileşimde önemli bir role sahiptir.

5)Menteşe bölgesi: Prolin bakımından zengin bir bölgedir. Katalitik alanı hemopeksin benzeri alana bağlayan esnek bir bağlayıcıdır.

6)Fibronektin benzeri jelatin bağlanma alanı: İki jelatinazda (MMP-2, MMP-9) bulunan özel bir alan. Bunlar, katalitik alanda bulunan ve jelatin, laminin, kollajen tip 1 ve tip 4'e bağlanmaktan sorumlu olan üç fibronektin tip 2 tekrarıdır.

7)Kollajen benzeri etki alanı: Serin / prolin / treonin bakımından zengin kollajen tip 5 benzeri bölge.

MMP-9'un esas görevi, hücre matriksi bileşiminin düzenlemektir. MMP-9, denatüre kollajeni (jelatinler) ve bazal membranın ana bileşeni olan tip 4 kollajeni parçalamaktadır. Söz konusu parçalanma, lenfositlerin ve öteki lökositlerin kanla lenf dolaşımına giriş çıkışına yardım eder. MMP-9 ayrıca myelin bazik proteini (MBP) ile tip 2 jelatinler gibi myelin bileşiklerini ayırır ve otoimmünitenin REGA modeli olarak adlandırılan, otoimmünite üretebilen kalıntı epitoplara yol açar.Jelatin, elastin, laminin, fibronektin, proteoglikan core protein, myelin, tip 4,tip 5,tip 7, tip 10, tip 11, tip 17 kollajen, serin protez inhibitörleri, substans P, galaktozid bağlayıcı proteinler, IL-2 reseptörü gibi fonksiyonel proteinler MMP-9'un başlıca subsratlarıdır[18][20][191].

MMP-9'un aktivasyonu lenfositler ve monositler tarafından; ekspresyonu ve sekresyonu sitokinler, kemokinler, eikosanoidler ve peptidoglikanlar tarafından düzenlenir[192]. MMP-9; gen transkripsiyonu, sentez, sekresyon, aktivasyon, inhibisyonla glikozilasyon aşamalarında sıkı bir kontrol altındadır.

Translasyon: Çoğu hücre tipinde, MMP-9'un gen transkripsiyonu sitokinlerle hücresel etkileşimle indüklenmeyle gerçekleşir. Nötrofiller, diğer hücre tiplerinin aksine, olgunlaşmaları sırasında MMP-9'u eksprese ederler ve daha sonra MMP-9'u ikincil veya üçüncül granüller içerisinde depolarlar. Bundan dolayı, olgun nötrofillerin uyarılması,

MMP-9'un upregülasyonuna neden olmaz, ancak degranülasyon yoluyla enzimin salınımı gerçekleşir.

Sekresyon ve Aktivasyon. Translasyonu takiben hemen MMP-9’un sekresyonu başlar. MMP-9 zimojen (proenzim) olarak salgılanır ve propeptid alanının proteoliz yoluyla uzaklaştırılmasıyla aktive edilir. Konformasyonel değişiklik meydana geldiğinde ve Zn bir hidrolitik su molekülü ve substrat için erişilebilir hale geldiğinde enzim aktifleşir. Stromelisin-1 ve MMP-2 gibi diğer çeşitli MMP'ler dahil olmak üzere değişik proteazların MMP-9'u aktifkeştirir. Birkaç lökosit türü MMP-9'u kimyasal bakımdan aktifleştirilir. Örneğin aktif nötrofiller, pro-MMP-9'u aktifleştirebilen mühim miktarlarda hipoklorik asit üretir.

İnhibisyon: MMP-9 etkinleştirildikten sonra, alfa-2 makroglobulin (insan serumunda bulunan bir proteaz inhibitörü) gibi spesifik olmayan inhibitörler ya da MMP'lerin spesifik doku inhibitörleri TIMP'lerce (bilhassa TIMP1) inhibe edilirler.

MMP-9 İnhibisyonunun Üstesinden Gelme Yöntemleri: Stromelisin-1 konsantrasyonu, TIMP-1 konsantrasyonundan düşük olduğunda, stromelisin-1 inhibe edilir ve MMP-9 aktivasyonu gerçekleşmemektedir. Stromelisin-1, TIMP-1 konsantrasyonundansa TIMP-1, MMP-9'dan stromelisin-1'e kaydırıldığı için MMP-9 aktif hale gelir. Nötrofil siliak asitleri de TIMP1 ve MMP-9 arasında hassas bir düzenlemeye sebep olur ve siliak asit uzaklaştırıldığında inhibisyon etkisi azalır.

MMP-9’un posttranslasyonel modifikasyonu glikolizasyon, dimerizasyon ve degranülasyon olmak üzere 3 şekilde gerçekleşir.

Glikolizasyon: N ve O'ya bağlı oligosakkaridler kollajen benzeri alana bağlanır. Bu oligosakkaridler hacimli ve oldukça hareketlidir ve molekül üzerindeki bağlanma bölgelerinde önemli bir yer kaplar. Böylece, oligosakkaritler enzimin belirli alanlarını bozulmaya karşı korur, molekülü stabilize eder ve belirli alanlara spesifik konformasyonlar empoze edebilir veya hücre dışı matris veya hücre yüzeyi molekülleri ile etkileşimler yoluyla enzimi hedefleyebilir.

Dimerizasyon: MMP-9'un başka bir posttranslasyonel modifikasyonudur. Jelatinaz B, serbest sistein kalıntıları sayesinde kovalent bağlı homodimerler oluşturur..Ayrıca, nötrofillerde, MMP-9 ile ilişkili lipokalin ile heterodimerler oluşturabilir.

Degranülasyon: Çeşitli kemotaktik faktörlerin etkisiyle nötrofillerden önemli miktarda hücre içi depolanmış MMP-9'un hızlı degranülasyonu, MMP-9 aktivitesinin kontrolünün bir başka çeşitidir. IL-8, MMP-9'un nötrofillerden süratli degranülasyonunu uyarır.

2.5.4.Matriks Metalloproteinaz-9 ve Periodontal Hastalıklarla İlişkisi

MMP izoformları arasında, MMP-9, periodontitisli hastalarda inflamasyon ilerlemesinin aşamalarında mevcut olan en yaygın mediatörlerden biri olduğu çeşitli preklinik modellerde gösterilmiştir. Periodontal dokular patojenik bakterilere maruz kaldıktan sonra ve konakçı yanıtı sırasında vasküler makrofajlar tarafından MMP-9 salındığı gösterilmiştir ve vasküler homeostazın subklinik bir belirteci olduğu kabul edilmiştir[21][193]. MMP-9'un, IL-1, IL-6, IL-8 ve prostaglandinler dahil olmak üzere inflamasyonun erken aşamalarında bazı mediatörleri düzenlediği bulunmuştur [194][14]. MMP-9 ekspresyonunun periodontitisin aktif aşamalarında periodontal dokuya verilen hasarla ilişkili olduğu düşünülmektedir [22]. Bazı çalışmalarda, periodontitisin başlangıç aşamasında diş eti oluğu sıvısında MMP-9 seviyesinin arttığını ve MMP-9’un periodontal patojenlere konak yanıtı ile ilişkili neoanjiyogenezde kilit bir role sahip olduğunu gösterilmiştir[195]. MMP-9'un ana kaynağı polimorfonükleer nötrofillerdir ve periodontitisin ileri evrelerinde enflame birleşim ve gingival epitel hücrelerinde yüksek düzeyde tespit edilir [196]. Bu nedenle, yüksek MMP-9 seviyeleri periodontitis hastalarının durumunu doğru bir şekilde yansıtabilir ve tanı için yararlı bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir.

Periodontitis sırasında, MMP-9'un CRP (C-reaktif protein) ile birlikte nitrik oksit (NO) sentezini engelleyebileceği ve bunun da endoteli ve arteriyel vasküler tonusu olumsuz yönde etkileyebileceği ve sonunda endotelyal disfonksiyon ve artmış kardiyovasküler hastalık riskine neden olabileceği varsayılmaktadır. Bazı çalışmalarda, nitrik oksit salınımına bağlı endotel hasarı ile MMP-9'un serum seviyeleri arasında karşılıklı bir ilişki olduğunu gösterilmiştir. Periodontal hastalığın ilerleyişi sırasında, serum NO seviyelerindeki değişimler patojenik bakterilere karşı oluşan konağın immün yanıtının bir sonucudur [197]. Bu bulgulara rağmen, günümüzde henüz nitrik oksidin ve doğrudan oksidatif stresin periodontal dokular üzerindeki etkileri konusunda tam bir fikir birliği yoktur. Gerçekten de bazı çalışmalar, hastalığın aktif fazında periodontitisli hastalarda yüksek NO ve MMP seviyeleri gösterirken, bazı çalışmalarda ise periodontal

hastalığın gelişimi sırasında düşük NO seviyeleri ve bazı MMP türlerinde azalma gösterilmiştir [198]. MMP-9 aracılı bağışıklık tepkisi ile periodontitis gelişimi sırasında salınan ve T lenfositleri üzerinde spesifik bir etki sergileyen ısı şok proteinlerinin varlığı arasında ilişki olduğunu gösteren çalışma sonuçları mevcuttur [199]. Son çalışmalar, MMP-9'un başlangıç bağışıklık fazı sırasında konak savunma mekanizmalarının temel bir modülatörü olduğunu doğrulamıştır. Böylece MMP-9 ekspresyonunun konakçı savunma mekanizmasını, endotel homeostazını içeren ve periodontal hastalık geliştirme riskinin artmasına yol açan bir dizi olayı tetikleyebileceği vurgulanmıştır [23][24]. Tüm bu nedenlerle, MMP aktivitesini inhibe etmeye odaklanan hedefe yönelik tedavi, periodontal hastalıklarının tedavisinde, diş taşı temizliği, kök yüzey düzleştirme ve kemik cerrahisine ek olarak ideal bir terapötik seçenek olabilir.

2.6.Diş Eti Oluğu Sıvısı

Diş eti oluğu sıvısı (DOS), periodontal dokular tarafından üretilen, serum, doku yıkım ürünleri, inflamatuar mediatörler ve dental plak bakterilerine karşı oluşturulmuş antikor gibi lokal faktörlerden oluşan bir eksüdadır. DOS bileşenleri kaynağını serum, bağ dokusu ve gingival epitelden alır [25]. Diş eti oluğu sıvısı, birleşim epitelinin yapısını korumada ve periodonsiyumun antimikrobiyal savunmasını sağlamada önemli bir rol oynar.

Başlangıçta, çoğu araştırmacı diş eti oluğu sıvısını inflamatuar bir eksüda olarak sınıflandırmıştır [200]. Ancak klinik olarak normal dokudan alınan diş eti oluğu sıvısının, sadece hastalık klinik olarak mevcut olduğunda inflamatuar bir eksüda haline gelen dönüşen bir serum eksüdası olduğunu gösteren kanıtlar vardır [201]. 2001'den bu yana, nötrofillerin sağlıkta bile diş eti oluğuna göç ettiği bilinmesi de DOS’un fizyolojik bir transüda olduğunu kanıtlar niteliktedir. Ayrıca diş eti oluğu sıvısının, mikrobiyal profil ve moleküler biyobelirteçlerin konsantrasyonu ve bileşimi açısından, hastalıklı bireylerin sağlıklı bölgeleri ile periodontal olarak sağlıklı bireylerin sağlıklı bölgeleri arasında farklılık gösterdiği açıktır. Ek olarak periodontal hastalığın ilerleyişi sırasında da DOS bileşiminde belirgin değişiklikler olmaktadır [202]. Sağlıklı sulkusta, DOS miktarı çok daha azdır. Enflamasyon sırasında, DOS akışı artmaktadır ve bileşimi enflamatuar bir eksüdanınkine benzemeye başlamaktadır. Artan DOS akışı, bakteri kolonileriniyle metabolitlerini sulkustan uzaklaştırmak suretiyle konakçı savunmasına

katkı vermektedir. DOS difüzyonu için ana yol bazal membrandan ve daha sonra birleşim epitelinden sulkusa doğru ilerler [27].

Diş eti oluğu sıvısının kökeni üzerine yapılan erken araştırmalar sırasında, sıvının epitel membranları boyunca nasıl taşınabileceğini açıklamak için, hidrostatik filtrasyon, aktif taşıma ve klasik ozmoz teorileri de dahil olmak üzere çeşitli süreçler öne sürülmüştür [203]. Diamond & Tormey, mesane safra kesesi epiteli boyunca suyun in vitro taşınması sırasında meydana gelen morfolojik değişikliklerin gözlemlenmesine dayanarak DOS'un taşınması için bir model önerdi. Temel olarak, su taşımacılığının maksimum olduğu koşullar altında, hücreler arası boşlukların geniş ölçüde şiştiği ve tersine, su taşınması kısmen engellendiğinde, hücreler arası alanların kısıtlandığı gözlenmiştir. Diamond & Tormey 1966'da, hücreler arası boşluklarda bir ozmotik gradyan olduğunu ve suyun hücre zarı boyunca ozmotik olarak çekilmesiyle ozmotik dengeye ulaşıldığı fikrini benimsemişlerdir [204].

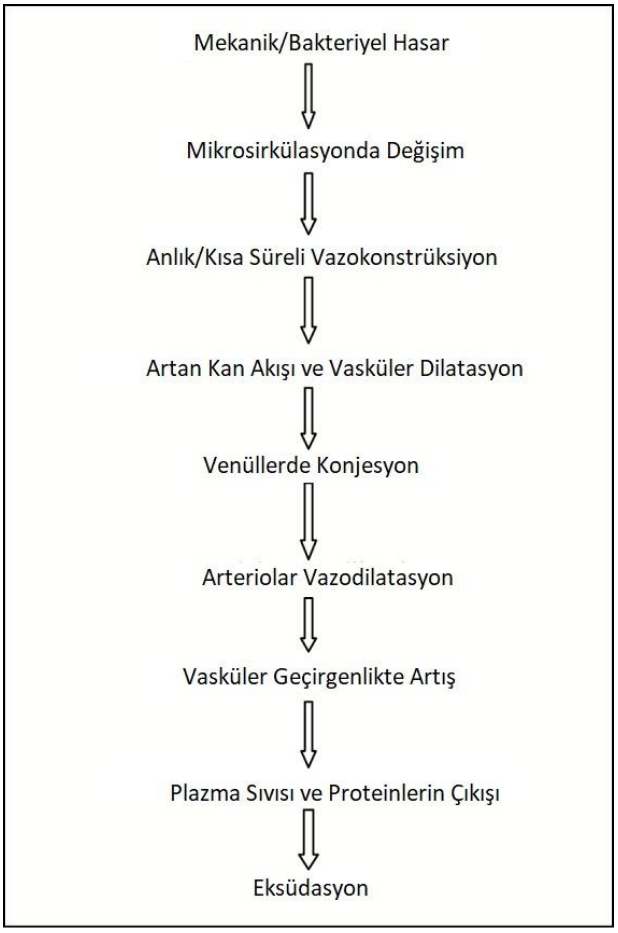
Tolo, 1971'de, epitel hücre zarlarının belirli segmentlerinde ATPaz varlığının, çözünen moleküllerin aktif taşınmasının göstergesi olabileceğini belirtmiştir [205]. Bununla birlikte, transkriptom çalışmaları, birçok çözünür taşıma proteininin dokularda eksprese edildiğini ve bunların çoğunun inflamasyonda upregülasyona uğradığını göstermiştir [206][207][208].

Subgingival plak ile modülasyonu içerecek bir DOS akışı modeli arayışında, Tolo [209]ve Schwartz ve ark. [210], sulkuler epitel yoluyla otoradyografi ile izlenen radyoaktif etiketli makromolekülleri kullanarak çalışmalar yaptılar. Sonuçlar, bazal membranın etiketli makromoleküllerin geçişini kısıtlayabileceğini gösterdi. Bu nedenle, gingivitis modelinde, bakteriyel yan ürünler bazal membranda biriktikçe, ayakta duran bir ozmotik gradyan üretilir ve DOS akışı başlatılır. Bu ilk sürecin ozmotik olarak modüle edilmiş, proinflamatuar eksüdaya karşılık geldiği konusu tartışmalıdır. Sekonder inflamatuar eksüda oluşumunu, Weinstein ve ark., sıvıda normalden hafif iltihaplı ve iltihaplı diş eti dokularına işaretli, ilerleyici bir artış gösteren protein / kalsiyum oranına dayanarak açıklamışlardır [201].

Diş eti oluğuna hücresel infiltrasyonun eşlik ettiği sıvı akışı inflamasyonun tipik bir göstergesidir. Diş eti oluğunda majör hücresel savunma sistemi olarak kabul edilen nötrofiller, altta yatan bağ dokusunda kılcal ağı terk eder ve birleşim epitelinden kreviküler boşluğa göç eder ve burada subgingival plak ve diş eti epitelinin arayüzünde

birikirler. Bu göç hem bakteriyel bileşenler hem de aktif konakçı haberciler tarafından oluşturulan kemotaktik gradyanlarla birlikte meydana gelir. DOS'tan izole edilen nötrofillerin yaklaşık %75-80'i canlı hücrelerdir ve kreviküler nötrofillerin, antibakteriyel moleküllerin silahlandırılmasını kullanarak mikroorganizmaları yutma ve öldürme yeteneğine sahip oldukları görülmektedir. Bununla birlikte, diş eti cep mikro ortamındaki nötrofil fonksiyonel kabiliyeti hala tartışmalı bir konudur. Ayrıca sağlıklı durumda nötrofillerin diş eti sulkusuna alınmasına hizmet eden bir IL-8 gradyanının varlığı DOS ile bu mediatörlerin sulkusa göç ettiğini ve DOS akışının fizyolojik bir süreç olduğunu kanıtlamaktadır. Diş eti cebindeki nötrofillerin sağlıklı durum fizyolojisinin bir parçası olduğu ve gerçekten enflamatuar bir yanıt olmadığı düşünülebilir[202].

İnflamasyon esnasında, sitokinler, proteinler, proteinazlar, fosfatazlar ve lokal doku parçalanma ürünleri gibi çok sayıda hücre ve inflamatuar faktör, DOS'a salınır. Böylece diş eti oluğu sıvısının içeriği, elektrolitler, küçük organik moleküller, proteinler, sitokinler, spesifik antikorlar, bakteriyel antijenler ve hem konakçı hem de bakteriyel kökenli enzimler dahil olmak üzere kan, konakçı dokular ve subgingival biyofilmden kaynaklanan moleküllerin bir karışımı haline gelir. Bu bileşim, diş eti sulkusunun epitel astarının düşük molekül ağırlıklı bileşiklere geçirgen olduğunu ve doku sıvısının sulkus ve ceplere geçişinin, kreviküler ortamın homeostazında önemli bir rol oynayabilecek olası bir savunma mekanizması olarak hareket ettiğini açıkça göstermektedir[26]. Ancak hastalık ilerledikçe biyofilm kolonizasyonuna da müdahale eder. Birçok çalışma, doku iltihabının ilk olaylarından birinin, kılcal damarlardan interstisyuma sıvı infiltrasyonunda bir artış olduğunu, bunun kılcal duvarlar boyunca artan Starling kuvvetlerinin ve vasküler geçirgenliğin veya vazodilatasyonun artmasının bir sonucu olabileceğini ve bunun sonucunda net sıvı hareketinin ve interstisyel hidrolik basınçta yükselmenin bir sonucu olabileceğini göstermiştir [211] [212][213][214].



Şekil 2. Diş Eti Oluğu Sıvısı Üretilme Aşamaları

DOS akışı, sıvının diş eti oluğuna veya cebine girip çıkması işlemidir. Genellikle saatte sadece birkaç mikrolitre olan küçük bir sıvı akışıdır. DOS akışı, belirli bir süre diliminde belirli bir sınırı aşan sıvı hacmi olarak hesaplanır ve matematiksel olarak dV/dt olarak sembolize edilir. DOS akışı sağlıklı kişilerde sığ cepler için 3-8 µl/saat, orta seviyede etkilenen periodontal hastalıklı ceplerde ortalamada 20 µl/saat ve ileri seviyede etkilenen periodontal hastalıklı ceplerde 137 µl/saat şeklinde ölçülmüştür. DOS hacmiyse belli bir zaman diliminde sulkus ya da cep içerisindeki sıvı miktarını tanımlamaktadır. Bundan dolayı DOS ile alakalı araştırmalarda göllenen DOS (g-DOS) ile aktif DOS (a- DOS) kavramları görülmektedir. Sığ sulkusta düşük DOS akış sürati (<3 µl/saat) ve aynı zamanda düşük g-DOS (0.05 µl) hacmi belirlenir. Derin ceplerdeyse g-DOS hacmi çoktur (>1.5 µl) ve daha çok DOS akışı oranı (44 µl/saate kadar) belirlenir. g-DOS ve a-DOS farklı olmalarına karşın alan yazında birbirilerinin yerine kullanımlarına rastlanır [215]. Uitto, periodontitisli sahalarda DOS akışının, periodontal olarak sağlıklı alanlar ile kıyaslandığı zaman hemen hemen 30 kat artabileceğini ifade

etmiştir ve etkili bir periodontal tedaviden sonra DOS akış süratinin sağlıklı sahalardaki seviyeye inmesi gerektiğini ifade etmişlerdir [216].

Hem içeriği hem de akan bir sıvı olması dikkate alındığı zaman DOS bölgesel savunma için önemli işlevlere sahiptir[217][218][219]. Küçük hacimlerdeki DOS akışının periodontal mikroçevre üstüne büyük etkileri vardır[217]. Bakteriyel plak devamlı olarak serum kaynaklı humoral ve hücresel konak cevap bileşenlerini kapsayan bir DOS akışıyla yıkanmaktadır [219]. Dolayısıyla DOS oluşumuyla akışı, bakteri birikimini azaltan mekanik bir etken olarak diş eti oluğundaki bakterilerin kontrolü altında kritik bir rol oynar [220]. Artan DOS akışı bakteri kolonileriyle metabolizma ürünlerini sulkustan yıkayıp uzaklaştırmaktadır ve bu biçimde konak savunmasına yardımcı olmaktadır [218]. Mekanik temizleme etkisinin yanı sıra DOS'un, içerdiği tabii ve kazanılan immün molekülleriyle hemostazın oluşturulmasında etkisi vardır [219]. DOS ile periodonsiyumun antimikrobiyal savunması birleşim epitelinin yapısının devam ettirilmesinde de önemlidir [215]. Söz konusu eksudanın dışarıya doğru akışı, dentogingival sahadaki diş yüzeyine tutunmayan bakterileri uzaklaştırır. Bu sayede bakteriyel metabolik yan ürünlerle toksinlerin konsantrasyonları azaltılmış olur. Ayrıca DOS'taki antimikrobiyal bileşenlerle enzimler direkt olarak bakteriyel kolonizasyon bölgesine taşınmış olurlar. Bu sayede subgingival plak yüzeyindeki bakterilere karşı sürekli olarak antimikrobiyal bileşenlerin savunmasına olanak tanır [221].

İmmünoglobulinlerin diş etinde DOS aracılığı ile yerel bir koruma tesiri vardır. Ayrıca DOS'un tükürüğe karışması sonucu ağız boşluğuna geçerek genel ağız savunmasına da katılırlar. DOS akışının enflamatuvar durumlarda artması, içerik bakımından enflamatuvar cevaptan kaynaklanan bir ürün zincirinin de tükürüğe katılmasını sağlar [222].

Diş eti oluğu sıvısı, koruyucu fonksiyonlarla zıtlık oluşturacak biçimde bakteriler için besin unsuru olabilecek maddeler de içermektedir [223]. DOS'un temelde konak hücreleri için bir büyüme ortamı şeklinde fonksiyon görmekle beraber, subgingival bakteriler için de çok iyi bir besin kaynağı olabileceği ve kimi patolojik bakteri suşlarının proliferasyonu için gereken faktörleri içerebileceği belirtilmiştir [221].

DOS'un tanı ve prognoz açısından önemi; diş eti hastalıklarının şiddetini, periodontal tedavinin ve ağız hijyeninin etkinliğini, diş eti cerrahisi sonrası iyileşmeyi ve ağız hijyeninin etkinliğini, lokal yıkım oranını, birleşim ve sulkuler epitelin geçirgenliğini ve

periodontal ve sistemik hastalıklar arasındaki ilişkiyi değerlendirme açısından bilgi sunan bir biyobelirteç olmasıdır. Diş eti oluğu sıvısı akışını etkileyen başlıca faktörler şunlardır [27]:

1. Gingival inflamasyon, sert gıdaların çiğnenmesi, derin periodontal cep, subgingival enstrümentasyon, kök yüzey düzleştirme ve topikal histamin uygulaması DOS akışını artırır.
2. Enzimler ve cinsiyet hormonları: Kadın cinsiyet hormonları vasküler geçirgenliği artırdığı için DOS akışını arttırırlar.
3. Sirkadiyen ritm: DOS miktarında sabah 6'dan akşam 10'a kadar kademeli bir artış ve daha sonraki saatlerde azalma görülür.
4. Periodontal cerrahi, restoratif işlemler, ortodontik diş hareketi, strip yerleştirme, mobilite, artan vücut ısısı DOS akışını artırır.
5. Ovulasyon, hormonal kontraseptifler ve sigara içme DOS akışında değişimlere neden olur.
6. Yerel ilaç uygulamasının (tetrasiklin fiber, minosiklin jel ve metronidazol jel vb.) DOS hacmini azalttığı bilinir [224].

2.6.1. Diş Eti Oluğu Sıvısının İçeriği

Diş eti oluğu sıvısı genellikle; hücresel bileşenler, elektrolitler, organik bileşenler, bakteriyel-metabolik ürünler, endotoksinler, antibakteriyel faktörler, enzimle enzim ürünleri-inhibitörleri, immünoglobilinler, proteoglikan (PG)'lar ve glikozaminoglikan (GAG)'lar, sitokinler vd. bileşenleri içermektedir. DOS'un organik içeriği genellikle seruma benzeyen fakat lokal olarak üretilmiş olan ürünler (mesela immünoglobulin ile kompleman bileşenleri) de vardır. Bunun yanı sıra sıvıda olağan olarak serumda olmayan metabolik ürünlerle kimi bakteriyel ürünler de vardır (25)

Hücresel Bileşenler:

DOS'un majör hücresel içeriğini bakteriler, epitel hücreleri, lökositler ve eritrositler oluşturur. Bakteriler komşuluğundaki dental plak kaynaklıdır ve kompozisyonu plağa benzerdir. Konak immün yanıtını başlatırlar. Epitel hücreleri, gingival sulkusu oluşturan epitelin, yüksek turnover oranıyla uyumludur ve birleşim ve cep epitel hücrelerinden oluşur. Lökositler, kan damarlarının oluşturmuş olduğu gingival pleksustan kaynak alır.

Lökositlerin sayısı, inflamasyonun yoğunluğu ile orantılı olarak artarken, %95-97 nötrofiller, %1-2 lenfositler ve%2-3 mononükleer hücrelerden oluşur. PMNL'ler tabii immünitede, monosit /makrofajlar ile lenfositler hücre kaynaklı immünitede göreve sahip olabilirler. Eritrositler, tesadüfi bir bulgudur ve DOS'ta küçük kan damar ve diş eti bağ dokularının kapillerlerinin zarar görmesine dayalı olarak takip edilebilir [221].

Elektrolitler, organik bileşenler, bakteriyel ürünler, metabolik ürünler, immünoglobulinler ve sitokinler:

DOS'ta bulunan temel elektrolitler sodyum, potasyum ile kalsiyumdur. Bunun yanı sıra flor, fosfat, magnezyum da içermektedir [225]. DOS'taki Na: K oranı, 3: 9 oranının aksine 28: 1'dur, bu da sıvının bozulmuş hücrelerden hücre içi potasyum birikimi nedeniyle hasarlı dokudan geçtiğini doğrular [226]. Karbonhidratlardan glukozun varlığının yanında DOS muhtevasında pek çok protein yapısında madde vardır [225][227]. DOS içeriği kapsamındaki başlıca bakteriyel ürünler; endotoksinler, hidrojen sülfid gibi sitotoksik maddeler, bütirat ve propionat, polyaminlerdir [228][229]. Hidroksipirolin ve üre gibi maddeler ise DOS'ta rastlanılan metabolik ürünlerdir [230]. DOS'ta prostoglanginlerin ve glikozaminoglikanların varlığını ise aktif periodontal yıkımın bir göstergesidir [231][232]. DOS'taki antikor düzeyleri bölgesel enflamasyonun kısmi immunoregülasyonunda rol alır [219]. DOS pek çok serum ya da lokal kaynaklı kompleman bileşeni (sağlıkta C3 ile C4) de içerir. Sitokinler de DOS içeriğinin mühim bir kısmını oluşturur. İnterlökinler (IL-1β, IL-1α,IL-6,IL-8 vb.) , tümör nekrotize eden etken -α (TNF- α) ile interferon-α DOS'ta bulunan ile periodontal hastalıkların patogenezinin daha iyi tanımlanması bakımından yoğun biçimde incelenme sahası bulan sitokinlerdir [233][234][235].

Enzimler ve enzim inhibitörleri:

Enflamatuar hücre kökenli proteolitik ve hidrolitik enzimler: Enflamatuar süreç, polimorfonükleer nötrofillerin veya lökositlerin (PMN), makrofajların, lenfositlerin ve mast hücrelerinin salınımına yol açar. Bu enflamatuar hücrelerin lizozomlarında, fagositoz esnasında bakteriyel ve metabolik ürünleri bozan yıkıcı enzimler bulunur. Bu enzimler, salındığında gingival dokuyu bileşenlerini parçalayabilirler [216].

Matriks Metalloproteinaz: MMP'ler makrofajlar, nötrofiller ve fibroblastlar tarafından sentezlenirler ve keratinositler bazı bakteriyel ürünler ve sitokinler tarafından uyarıldığında bu hücreler tarafından inaktif olarak salgılanırlar. Periodontal hasarlı

bölgelere toplam MMP seviyeleri daha yüksek iken tedavi sonrası MMP seviyeleri daha düşük, inhibitör seviyeleri daha yüksektir [236].

Sistein proteinazlar: Katepsin B, L ve H, kollajen de dahil olmak üzere hücre dışı bileşenleri parçalayabilen bir hücresel sistein proteinaz ailesidir. Asidik pH'ta ve özellikle kemik rezorpsiyonu sırasında aktiftirler. Esas olarak fibroblastlar, makrofajlar ve osteoklastlar tarafından üretilirler [237]. Periodontal tedaviyi takiben diş eti oluğu sıvısındaki B ve C katepsin seviyelerinin anlamlı derecede azaldığı görülmüştür [229].

Aspartat proteinaz: Katepsin D, gingival dokularda bulunur ve DOS’taki seviyesinin, artan diş eti iltihabı, sondalama derinliği, ataşman ve kemik kaybı ile önemli ölçüde ilişkili olduğu gösterilmiştir [238].

Serin proteinazlar: Aktif elastaz, dişeti dokusunda yalnızca ara sıra saptanabilir ve genellikle PMN'lerin diş eti cebine göç ettiği birleşim epitelinin bitişiğinde veya ilerleyemiş periodontal hastalık durumunda granülasyon dokusunda görülür [239]. Triptaz aktivitesi, gingival dokularda büyük miktarlarda ve DOS'ta küçük miktarlarda bulunur ve diş eti mast hücrelerinde lokalize olmuştur. Triptaz, fibroblastlardan ve iltihaplı diş eti dokularından kollajenaz salınımını uyarır [240].

Dipeptidil peptidaz: Asidik pH'ta aktif olan dipeptidil peptidaz II (DPP II) ve alkali pH'ta aktif olan DPP IV, gingival dokularda ve DOS'ta bulunur. Miyeloperoksidaz, periodontal hastalık bölgelerinde sağlıklı bölgelere göre daha yüksek olan PMN'ler tarafından üretilen güçlü bir bakteriyel enzimdir. Lizozomlar vücut salgılarında, özellikle gözyaşı, tükürükte ve DOS’ta bulunur. Laktoferrin, DOS'ta bulunan ve enflamatuar hücreler tarafından üretilen bir antibakteriyel maddedir [241].

Aspartat aminotransferaz ve laktat dehidrogenaz: Aspartat aminotransferaz, ölü veya ölmekte olan hücreler tarafından salınır, laktat dehidrogenaz ise eritrositlerin, trombositlerin ve lökositlerin sitoplazmasında bulunur [242].

İlaçlar:

Sistemik şekilde kullanılan ilaçların DOS’a geçişi uzun müddettir bilinmektedir. DOS’ta bulunan antibiyotiklerin en bilineni doksisiklin, minosiklin ve tetrasiklindir. Söz konusu 3 ilaç arasından doksisiklin, DOS’ta en yüksek konsantrasyonda ölçülmüştür [243]. Spiramisin ile metronidazolün DOS’taki seviyelerinin periodontopatojenik bakteri inhibisyonu karşısında gereken konsantrasyon seviyesinin üstüne çıktığı ve söz

konusu seviyenin uzun müddet sürdüğü belirtilmiştir. Spiramisinin DOS'ta seruma nazran daha fazla bir seviyeye ulaşıyorken , bu tür bir durumun metronidazol için geçerli değildir [244]. Amoksisilin ile klavulanik asidin yıkıcı periodontal hastalığın varlığı durumunda, DOS içerisindeki minimal inhibitör konsantrasyonunun ilaca duyarlı periodontal anaeroblara (bilhassa P.intermedia) karşı etkili olduğu gösterilmiştir [245].

Antiepileptik ,şe antikonvülzan bir ilaç olarak tercih edilen fenitoin, DOS'a ulaşan ilaçlardandır. Fenitoin kullanmakta olan hastalarda DOS içinde diş eti iltihabıyla koşut olarak artan bir fenitoin konsantrasyonunun takip edildiği, fakat DOS'taki söz konusu seviyenin diş eti büyümesiyle ilişkilendirilemeyeceği belirtilmiştir [246]. Flurbiprofen gibi non-steroidal antienflamatuar ilaçlar da DOS'ta bulunabilir [247]. Non-steroidal antienflamatuar bir ilaç olan ibuprofenin deneysel gingivitis modeli kullanılmak suretiyle tesirinin araştırıldığı bir araştırmada ibuprofen kullanmakta olan kişilerde gingivitis bulgularının azaldığı ve DOS akış süratinin kontrol grubuna nazaran daha düşük değerlerde olduğu gözlenmiştir[248]. Marsh ve Bradshaw antienflamatuar ajanlar verilerek DOS akışının azaltılabileceğini savunmuştur. Bir periodontal tedavi modeli olarak söz konusu uygulamayla diş eti oluğunda halihazırdaki bakterilerin besin kaynağının azaltılabileceğine inanılmaktadır [249].

2.6.2.Diş Eti Oluğu Sıvısı Toplama Yöntemleri

DOS örneklerinin elde edilmesinde birçok yöntem bulunmaktadır. Bunlar: kapiller tüp yöntemi, kâğıt şerit yöntemi, diş eti oluğu yıkama yöntemi ve diğer (plastik stripler, platin halka, mikrospatüller, gargara, DOS toplama cihazı) olarak sıralanabilir. Her yöntemin kendi içinde avantaj ve dezavantajları vardır. DOS örneğinin elde edilmesinde son senelerde bilhassa ticari olarak üretilen standart boyutla emiciliğe sahip kâğıt şeritler daha çok tercih edilmektedir.

1.Kapiller Tüp Yöntemi

Bu yöntem, belli çaptaki ve uzunluktaki kapiller tüplerin diş eti oluğuna yerleştirilip ve sıvı aspire edilmesidir. Edelberg ve Kaslick söz konusu metodu kapiller tüpün diş eti oluğuna yerleştirdikten sonra , tüpün 2–4 defa mesial ve distal yöne hareket ettirilirken sıvının çekilmesi şeklinde uygulamıştır [250][251]. Bu yöntem özellikle diş eti oluğu sıvısı hacminin arttığı periodontal hastalıklı bölgelerde kullanılmaya uygundur. Bu yöntemle saf, seyreltilmeyen DOS toplanmaktadır. Sadece DOS miktarlarının çok az olduğu sağlıklı diş etinde sıvının elde edilmesiyle hacim ölçümü yapılması çok zordur.

Ayrıca DOS viskozitesi arttıkça kapiller sıvı toplanması daha da zor olabilmektedir. Küçük hacimli sıvıların elde edilmesi için kapiller tüpler bölgede uzun süre bekletilmelidir. Bu durum diş eti cebinde travmatik etkiye neden olabilir [252].DOS hacminin az olduğu bölgelerde kapiller tüp yönteminin kağıt şerit yöntemine göre daha travmatik olduğu gözlenmiştir [253].

2.Diş Eti Oluğu Yıkama Yöntemi

Diş eti oluğu yıkama yönteminde, sulkus bilinen özellik ve hacimde bir sıvıyla yıkanır ve geri toplanır. Böylece hücresel bileşenlerle plazma proteinlerini içeren seyreltilmiş bir DOS elde edilir. Bu yönteminde DOS toplanacak bölge pamuk rulolarla izolasyona tabi tutulara özel solüsyonlar ile (genel olarak Hanks solüsyonu) yıkanıp ardından bir mikro şırıngayla DOS ile bölgeye verilmiş olan sıvı geri aspire edilir [252][254][255]. Bu yöntemin, sıvının yıkamadan sonra tam olarak elde edilememesi, DOS hacmiyle içeriğinin doğru belirlenememesi gibi dezavantajları vardır [252]. Başka bir diş eti oluğu yıkama yöntemindeyse, kişilere akrilikten özel bir plaka hazırlanarak miktarı bilinen solüsyonlar ile dişeti oluğu yıkanmaktadır. Bu işlemden sonra plakalardaki özel şekilde hazırlanan tüpler aracılığıyla verilmiş olan sıvı geri elde edilir, bölgedeki DOS ile plakaya verilmiş olan sıvı geri kazanılmış olur [256]. Diş eti oluğunun yıkanması için tüm bireylere özel akrilik plaka hazırlanması gerekmesiyle az sayıda bireyden örnekleme yapılabilmesi söz konusu yöntemin dezavantajlarıdır. Hem yıkama hem de kapiller tüp yöntemi alt çenedeki kontaminasyon riskinden dolayı yalnızca üst dişlerde uygulanabilir [252].

3.Kâğıt Şerit Yöntemi

Bu yöntemde diş eti oluğu bölgesine farklı şekillerde konumlandırılan kâğıt şeritlerle DOS toplanır. Kâğıt şeritler DOS toplamak için günümüzde en sık kullanılan yöntemdir. DOS oluk dışı ve içi olarak iki değişik tekniklerle sağlanbilir.

Oluk dışı teknikte, kâğıt şerit oluk içine değil genel olarak dişin bukkal yüzeyine diş eti cebi giriş kısmına yakın biçimde yerleştirilir [257].Bu yöntem sulkus için atravmatiktir ancak örnekleme süresi uzundur ve çok az sıvı elde edilir [258]. Bu metotta kâğıt şeridin konumundan kaynaklı olarak tükürük ile plak kontaminasyon riskleri bulunmaktadır [257].

Oluk içi teknikler kendi içerisinde derin oluk içi ve sığ oluk içi olarak 2 şekildedir. Oluk içi teknikte kâğıt şerit sulkus içinde direnç hissedilene dek ilerletilerek yerleştirilir [259][260][245]. Sığ oluk içi metotta kağıt şeritler diş eti cebinin girişine (hemen hemen 1 mm içine) yerleştirilir [260][261].Sağlıklı bölgelerde cep derinliklerinin az olmasından dolayı sığ oluk içiyle derin oluk içi yöntemleri arasında fark bulunmamaktadır [252]. Kağıt şeritleri sulkus tabanına kadar ilerletmek mekanik travmaya neden olabileceği ve DOS hacmini artırabileceği gözlenmiştir [260][262]. Kağıt şeritlerin cep içinde derinlere yerleştirilmesinin epitele hasar verebileceği ve sıvının eksuda özelliğindeki akışını artırabileceği düşünülmektedir [263]. Oluk içi teknikte periodontal dokulardaki damarlarda vasküler permeabilitasyonun artabileceği de bildirilmiştir [264]. Bazı çalışmalarda DOS toplama esnasında kağıt şeritlerin konumuyla ilgili bilgi verilmediği görülmektedir [246][265].

Kâğıt şeritlerle DOS toplarken şeritlerin oluk içinde veya yanında ne kadar kalacağı ile ilgili bir fikir birliği yoktur. Ancak kağıt şeridin sulkus içinde kaldığı süre arttıkça mekanik iritasyon ve kan, tükürük ile kontaminasyon riskinin arttığı konusunda görüş birliği mevcuttur [257][260][266]. Tekrarlayan DOS örneklem çalışmalarında alınan ilk örneklerde içeriği oluşturan bileşen miktarlarının daha çok olduğu sonraki örneklerde ise giderek azaldığı ve DOS hacminin belli bir süre sabit kaldığı sonrasında giderek arttığı bildirilmiştir [266][267].

2.6.3. Diş Eti Oluğu Sıvısının Hacminin Ölçülmesi

Kâğıt stripler ile toplanan diş eti oluğu sıvısının hacmi; şeritlerdeki ıslak alanlar mikroskop altında incelenerek, kağıt şeritler tartılarak ve periotron aygıtı ile belirlenebilir.

Kağıt şeritlerin ıslak alanlarının mikroskop altında incelendiği yöntemde ıslak alanın yüzeyi hesaplanarak hacim tespiti yapılır. Islak alanların ninhidrinle boyanması, kalibre edilmiş büyütücü camların kullanılması yöntemi kolaylaştıran işlemlerdir [252][257][268].Sistemik olarak floresan boya verilen hastaların DOS'ları kağıt şeritlere toplandıktan sonra mikroskopta UV ışığı altında değerlendirilmesi diğer bir tekniktir [252][269]. Ancak bu işlemlerin uygulama zorluğu, örnek toplandıktan sonra incelenene kadar geçen süredeki buharlaşma riski, örneklere çeşitli maddeler ilave edildiği için DOS bileşenlerinin güvenilir şekilde ölçülememesi bu yöntemin dezavantajlarıdır [252].

Kağıt şeritler DOS toplandıktan önce ve sonra hassas tartılarda tartılarak DOS miktarı ölçülebilir. Bu yöntemde DOS hacmi oldukça küçük olduğu için çok hassas tartı gereklidir ve yine buharlaşma riski de bir dezavantajdır [252][257].

DOS hacmi, elektriksel kapasitans değişimleri ile ölçüm yapan bir aygıt olan periotron cihazı ile de ölçülebilir. Diğer tekniklerle kıyaslandığında daha hızlı ve daha hassas bir yöntemdir. Periotron cihazının kalibrasyonu, ortamın ısısı ve nemi ile buharlaşma , cihazın kontaminasyonu bu yöntemin sonucunu etkileyecek faktörlerdir [252].Kalibrasyon şu şekilde yapılır: DOS ile benzer özelliklere sahip serum vb. , miktarı bilinen bir sıvının kağıt şeritlere emdirilip bu hacimlerin cihaza okutulup tanıtılır. Bir kalibrasyon eğrisi oluşturulur. Daha sonra elde edilen DOS hacmi bu kalibrasyon eğrisi yardımıyla mikrolitre cinsinden hesaplanmış olur [270][224].Bu aşamada yapılan herhangi bir hata küçük hacimlerin ölçümünde ciddi farklılıklara ve yanlışlıklara yol açabilir. Bu nedenle cihaz kalibre edilirken tekrarlayan ölçümler yapılması ve kalibrasyonun belli dönemlerde kontrol edilmesi önerilmektedir [252].Plak, kan ve tükürük kağıt şeritlerin kontaminasyonuna neden olarak ölçümlerin yanlış olmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle DOS örnekleri toplanmadan önce bölgede pamuk rulolar ile izolasyon, 5 sn süreyle hava su spreyi ile kurutma ve supragingival plağın nazik bir şekilde temizlenmesi tavsiye edilmiştir [253][260][271].Diğer bir kontaminasyon riski de periotron cihazının kutuplarında önceki örnekten kalan artıkların bulunması durumudur. Tözüm vd. Periotron 8000® cihazı ile yaptıkları deneysel araştırmanın sonucunda cihazın kutuplarında kontaminasyon oluşabileceğini bildirmişlerdir [272]. Alan yazında kutuplar bölgesinde böyle bir kontaminasyondan kaçınmak için için kimi araştırmalarda kutuplar her ölçüm sonrasında kurulanmıştır [224][273][274]. Ayrıca kurulama öncesinde kutupların saf etanol ile temizlendiği de görülmektedir [224].

DOS hacmi ölçülürken hangi yöntem olursa olsun sonucu etkileyecek faktörlerden biri buharlaşmadır. Buharlaşma sıvı kaybına ve ölçülen değerlerin düşük olmasına neden olmaktadır. Bu aşamada ortam ısısı, nem ve kağıt şeritlerin cihaza taşınmasında geçen süre önem kazanmaktadır. Ortam sıcaklığının yüksek olmasının buharlaşmayı artırdığı düşünülmektedir [275]. HAR-600® cihazıyla gerçekleştirilen bir çalışmada yüksek oda sıcaklığında nem sabit olduğu zaman düşük oda sıcaklığına nazaran ölçüm değerlerinin daha fazla olduğu, bunun küçük hacimlerde (0,1µl – 0,2 µl) mühim bir farklılık

yaratmadığı, fakat yüksek nemin sabit oda sıcaklığında düşük neme nazaran okuma değerlerinde bir artışa yol açtığı gözlenmiştir [276]. Tözüm ve ark. yaptıkları deneysel bir çalışma sonucunda, kâğıt şeritlerdeki buharlaşmanın kağıt şeritlerin transfer müddetinin uzamasıyla ortaya çıktığı (30–60 sn) ve bunun önemli hacimsel değişikliklere yol açabileceği belirtmiştir [272].

3.MATERYAL VE METOT

Serum D Vitamini konsantrasyonunun periodontal hastalıklarda diş eti oluğu sıvısındaki MMP-9 seviyesi ile ilişkisinin ele alındığı bu tez, Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Kliniğine başvuruda bulunan hastalarda yapılmıştır. Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca 09.02.2022 yılında 2022/112 karar no'yla yazılı onay alındı. Araştırmaya katılan kişilere çalışmanın amacıyla içeriğine ilişkin ayrıntılı bilgi verilip gönüllü olarak çalışmaya dahil olduklarına dair bilgilendirilmiş gönüllü onam formu imzalatılmıştır.

3.1.Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- Sistemik olarak sağlıklı
- Çalışma için gönüllü
- 18 yaşından büyük
- Sigara kullanmayan
- Düzenli olarak ilaç kullanmayan ve son bir ay içerisinde antibiyotik kullanmamış
- Son 6 ay içerisinde D vitamini takviyesi kullanmamış ve
- Son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmemiş kişiler araştırmaya dahil edilmiştir.

3.2.Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- Sistemik bir hastalığı bulunan
- Hamilelik ve emzirme döneminde olan
- Düzenli ilaç veya herhangi bir sebeple son 1 içerisinde antibiyotik kullanmış
- Sigara kullanan
- Son 6 ay içerisinde D vitamini takviyesi kullanmış
- Son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmüş

- Çalışma için gönüllü olur onayı olmayan bireyler çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır.

3.3.Çalışma Grupları

Klinik muayene sonucu periodontal durumlarına göre periodontal sağlıklı, gingivitis ve periodontitis olarak 3 grup oluşturulmuştur. Daha sonra bu 3 guruptaki gönüllü bireyler her bir grup kendi içinde serum D vitamini seviyesi ölçülerek 10 ng/ml'nin altında olanlarla 10 ng/ml'nin üstünde olanlar şeklinde ikiye ayrılmıştır. Böylece çalışma için 6 grup oluşturulmuştur. Toplam 200 gönüllü çalışmaya dahil edilmiştir.

Tablo 8: Çalışma Grupları

	D vitamini seviyesi ≥10 ng/ml	D vitamini seviyesi <10 ng/ml
	n	n
Periodontal Sağlıklı	28	29
Gingivitis	38	37
Periodontitis	35	33

n=*hasta sayısı*

3.4.Klinik Periodontal Durumun Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan bireylerin periodontal muayenesini bir standart yaratmak için tek bir klinisyen yapmıştır. Hastaların oral kavitede halihazırdaki bütün dişleri değerlendirilmek suretiyle klinik ve radyografik muayeneleri yapıldı. Tüm dişlerden ağızdaki hijyen düzeyini ölçmek üzere Silness-Löe plak indeksi (PI), diş eti enflamasyonunu değerlendirmek üzere Löe-Silness gingival indeksi (GI), sondalamada kanama indeksi (SKİ), sondalanabilir cep derinliğiyle (SCD) klinik ataşman kaybı (KAK) ölçümleri gerçekleştirildi.

Plak İndeksi: Çalışmaya katılan tüm bireylerin plak oluşum ve birikim derecelerinin belirlenmesine yönelik olarak ağızdaki dişlerin 6 yüzeyinden (mesiobukkal, bukkal, distobukkal, mesiopalatinal, palatinal/lingual, distopalatinal) 0,5 mm çapında Williams tipi sond kullanılmak suretiyle, Silness/Löe plak indeksi skoruna göre plak birikimleri kaydedilmiştir.

Tablo 9: Silness/Löe plak indeksi skorlaması

Derece	
0	Diş eti kenarında plak yok
1	Diş eti kenarında göz ile izlenemeyen ancak sond gezdirilerek fark edilen ince bir plak film tabakası
2	Diş eti kenarında göz ile görülen orta derecede plak varlığı
3	Diş eti kenarında çok fazla plak film tabakası mevcuttur. Aproksimal sahalar da plakla doludur.

Gingival İndeks: Araştırmaya dahil edilen bütün kişilerin diş eti enflamasyon durumlarını saptamak üzere 0,5 mm çapında Williams tipi sond kullanılmak suretiyle, sondun diş eti kenarı boyunca gezdirilmesiyle tüm dişlerin 6 bölgesinden kanama ile diş eti yüzey özelliklerine göre gingival indeks skorları kaydedilmiştir.

Tablo 10: Löe/Silness gingival indeks skorlaması

Derece	
0	Normal diş eti, iltihap yok, renk değişimi yok, kanama yok
1	Hafif iltihap, renk değişimi var, hafif yüzey değişiklikleri, kanama yok
2	Orta şiddette iltihap, eritem, ödem, sondalamada kanama var
3	Şiddetli iltihabi değişim, belirgin kızarıklık, ödem, eritem, spontan kanamaya meyil ve ülserasyon

Sondalamada Kanama İndeksi: Çalışmaya katılan tüm bireylerin her dişinin 6 yüzeyinde sondla sulkus içerisinde gezdirilmiştir. Sond cepten /sulkustan çıkarılmasının ardından 30 saniye içerisinde sondalamada kanama görülen bölgeler için sondalamada kanama var, kanama görülmeyen bölgeler için sondalamada kanama yok şeklinde kaydedilmiştir.

Sondalanabilir Cep Derinliği: Çalışmaya dahil olan bütün bireylerin tüm dişlerinin mesiobukkal, bukkal, distobukkal, mesiopalatinal/lingual, midpalatinal/lingual,

distopalatinal/lingual olarak 6 noktasından, 0,5 mm çapında Williams tipi periodontal sond kullanılarak cep/sulkus tabanında hafif bir direnç hissedilene dek sond ilerletilmiştir. Periodontal cep/sulkus tabanından serbest diş eti kenarına kadarki uzaklık milimetre cinsinden ölçülmüştür ve kaydedilmiştir.

Klinik Ataşman Kaybı: Çalışmaya dahil olan bireylerin oral kavitedeki tüm dişlerinin 6 noktasından 0,5 mm çapında Williams tipi periodontal sond kullanılarak cep/sulkus tabanında hafif bir direnç hissedilene dek sond yerleştirilerek, cep/sulkus tabanından mine-sement sınırına olan uzaklık milimetrik olarak ölçülüp kaydedilmiştir.

Bütün klinik ölçümler tüm dişlerin 6 bölgesinden (mesio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mesio-lingual, mid- lingual, disto-lingual) elde edilmiştir. Tüm skorların ortalamaları için önce 6 yüzeyden elde edilen değerler toplanıp ortalamaları alınarak (6'ya bölünerek) her bir diş için ayrı ayrı ortalamalar belirlenmiştir. Ardından tüm değerler toplanıp toplam diş sayısına bölünerek tüm ağız ortalama Pİ, Gİ, SKİ, SCD, KAK skorları kaydedilmiştir.

Tüm klinik ölçümler, sondalamada kanama vb. nedenlerle DOS içeriğinde değişikliğe sebep olmaması açısından DOS örnekleri alınmadan 1 gün önce gerçekleştirilmiştir.

3.5. Diş Eti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Elde Edilmesi

Diş eti oluğu sıvısı örnekleri periodontal sağlıklı ve gingivitis hastalarının 4 molar dişinden (molar diş çekilmiş ise premolar dişlerden), periodontitisli hastalarınsa en derin sondalanabilir cep derinliği değerindeki 4 dişinden toplandı. Örnekler elde edilirken bu amaç için özel olarak hazırlanmış, boyutları ve emiciliği standart olan 2x14 mm boyutlarındaki kağıt stripler (Periopaper®, Proflow. Incorporated 1500 New Horizons Blvd. Amityville, New York, USA) kullanıldı. DOS elde edilmeden önce örnek alınacak dişin çevresi tükrük kontaminasyonunu engellemek için pamuk rulolar ile izole edildi. Diş yüzeyindeki supragingival plak steril scaler (Hu-Friedy Manufacturing Co. Inc, Chicago, IL, USA) yardımı ile uzaklaştırılmıştır.Diş hava/su spreyiyle hafifçe kurutulduktan sonra Periopaper örnek toplanacak dişin 1-2 mm'den fazla olmayacak şekilde diş eti cebi içerisine yerleştirilip 30 saniye bekletilmiştir. Kanla ve tükürükle kontamine olan stripler çalışmaya dahil edilmemiştir. Kağıt şeritlere toplanmış olan DOS'un hacmi, daha önce kalibre edilen hacim ölçüm vasıtası (Peritron® 8000; Pro Flow Inc., Amityville, NY, USA) yardımı ile örnek elde edilir edilmez µl cinsinden ölçülüp kaydedildi. Her bir kağıt şeritin periotrona yerleştirilmesinden önce periotron

kutupları alkollü pamuk ile silinerek kurutuldu. Örnekler 200 ml fosfat tamponlu salin (PBS) solüsyonu bulunan steril eppendorf tüpler içerisine yerleştirildi. Eppendorf tüpler biyokimyasal analiz sürecine kadar Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırma Laboratuvarı'nda -80 °C'de saklandı.

Şekil 3: Diş Eti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Toplanması

3.6.Biyokimyasal Analiz ile MMP-9 Seviyesinin Tayini

Örnekler, ticari USCN marka insan Matriks Metalloproteinaz 9 (MMP 9) ELISA kiti (Kat No: SEA553Hu, CV<%10) ile üreticinin talimatları doğrultusunda analiz edildi ve sonuçlar, ng/mL olarak verildi.

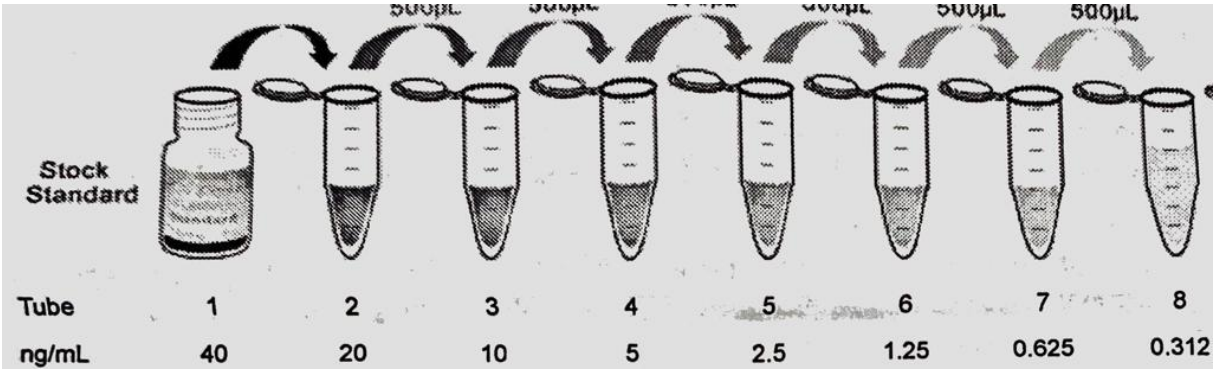
Şekil 4: MMP-9 ELISA Kiti

Kit içeriği:

- 96 kuyucuklu mikroplaka
- Standart (40 ng/mL)
- Standart dilüenti (20 mL)
- Saptama reaktifi A (120 uL)
- Saptama reaktifi B (120 uL)
- Test dilüenti A (12 mL)
- Test dilüenti B (12 mL)
- Yıkama solüsyonu (20 mL)
- TMB kromojen solüsyonu (9 mL)
- Stop solüsyonu (6 mL)

Reaktif Hazırlığı:

Liyofilize standart üzerine 1 mL standart dilüenti eklendikten sonra, 10 dakika oda sıcaklığında bekletilerek stok standart solüsyonu (40 ng/mL) hazırlandı. Standart seri, stok standartın seri dilüsyonu ile hazırlandı (Şekil). Saptama reaktifi A (120 uL) ve saptama reaktifi B (120 uL), 12 mL'lik şişelerde bulunan test dilüenti A ve test dilüenti B ile 100 kat dilüe edilerek hazırlandı. Yıkama solüsyonu, konsantre yıkama solüsyonu distile suyla 30 kat dilüe edilip hazırlanmıştır.



Şekil 5: Stok standarttan, standart serinin hazırlanması

Örnek hazırlığı:

200 uL'lik PBS içinde DOS striplerinin bulunduğu eppendorflar, çalışma öncesi 30 saniye süreyle vortekslendi. Her gruptan rastgele seçilen 5'er örnek olmak üzere toplam 20 örnek ile yapılan ön çalışması neticesinde, 1/10 dilüsyon yapılarak analizin gerçekleştirilmesine karar verildi. 20 uL örnek, 180 uL PBS üzerine eklendikten sonra 10 sn süreyle vortekslenerek 1/10 dilüe örnekler hazırlandı.

Tekrarlanabilirlik çalışması:

Dilüe örneklerden rastgele 30 örnek seçilip 50'şer uL alınarak bir eppendorf içinde örnek havuzu oluşturulduktan sonra 10 saniye vortekslenerek homojen karışması sağlandı. Tüm örneklerden sonra 10 kuyucuğa örnek havuzundan 100'er uL pipetlenerek analiz edildi. Elde edilen sonuçların ortalaması ve standart sapması sapması elde edildikten sonra, aşağıdaki formülle %CV hesaplanarak tekrarlanabilirlik değerlendirildi.

%CV = (Standart sapma / Ortalama) x 100

İdeali %CV değerinin %5'in altında olması olup, araştırma parametreleri için %20'nin altında olmalıdır. Bu çalışmada kullanılan ELISA kitinin prospektüsünde ise "CV<%10" olarak belirtilmiştir.

Çalışma:

1-Kuyucuklarına 100'er uL standart seri ve 100'er uL DOS örnekleri pipetlendi ve mikroplaka 1 saat 37°C'de inkübe edildi.

2-İnkübasyon sonunda, kuyucuklardaki sıvı mikroplaka yıkayıcı ile aspire edilerek uzaklaştırıldı.

3-Her bir kuyucuğa 100 uL saptama reaktifi A pipetlendi ve mikroplaka 1 saat 37°C'de inkübe edildi.

4-İnkübasyon sonunda, kuyucuklar mikroplaka yıkayıcı ile 3 kez yıkandı.

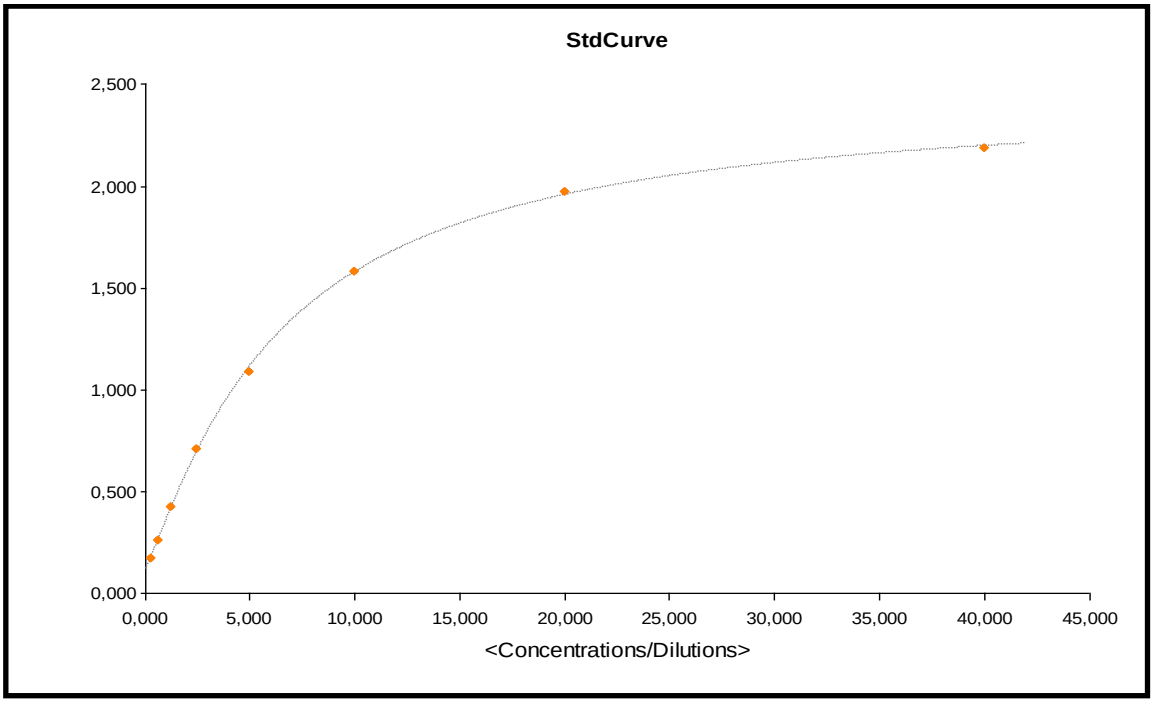
5-Her bir kuyucuğa 100 uL saptama reaktifi B pipetlendi ve 30 dakika 37°C'de inkübe edildi.

6-İnkübasyon sonunda, kuyucuklar mikroplaka yıkayıcı ile 5 kez yıkandı.

7-Her bir kuyucuğa 90 uL TMB kromojen solüsyonu pipetlendi ve 15 dakika 37°C'de inkübe edilmiştir.

8-İnkübasyon sonucunda, her bir kuyucuğa 50 uL stop solüsyonu pipetlenerek renk oluşumu durduruldu ve hemen mikroplaka okuyucu ile 450 nm'de absorbanslar okundu.

9-Standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak, MMP-9 standart grafiği çizildi (Şekil 6) ve DOS MMP-9 konsantrasyonları, ng/mL olarak belirlendi.



Şekil 6: Matriks Metalloproteinaz 9 (MMP 9) standart grafiği (R^2=0.99)

3.7.İstatiksel Analiz

Veriler IBM SPSS V23 ile R programıyla analiz edilmiştir. Olağan dağılıma uygunluk Shapiro-Wİlk ile Kolmogorov-Smirnov testleriyle analiz edilmiştir. 3 ve üstü gruplara göre olağan dağılmayan dataların kıyaslanmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır ve çoklu kıyaslamalar Dunn testiyle incelenmiştir. Gruplar çerçevesinde kategorik değişkenlerin kıyaslanmasında Ki-kare testi kullanılmıştır. Teşhis ve d vitamini gruplara nazaran normal dağılmayan MMP-9 değerlerinin karşılaştırılmasında R programında WRS2 paketi kullanılarak 2 yönlü Robust testi kullanıldı ve çoklu kıyaslamalar Bonferroni düzeltmesiyle incelenmiştir. Analizin neticeleri nicel veriler için ortalama±s. sapma ve ortanca (minimum – maksimum) biçiminde kategorik verilerse frekans (yüzde) şeklinde sunulmuştur. Önem seviyesi p<0,050 şeklinde alınmıştır.

4.BULGULAR

Çalışmamıza 200 katılımcı dahil edilmiş olup katılımcılar 6 gruba ayrılmıştır.Bu gruplar:

Grup 1: D vitamini düzeyi 10 ng/ml'nin altında ve periodontal sağlıklı

Grup 2: D vitamini düzeyi 10 ng/ml'nin üstünde ve periodontal sağlıklı

Grup 3: D vitamini düzeyi 10 ng/ml'nin altında ve gingivitisli hastalar

Grup 4: D vitamini düzeyi 10 ng/ml'nin üstünde ve gingivitisli hastalar

Grup 5: D vitamini düzeyi 10 ng/ml'nin altında ve periodontitisli hastalar

Grup 6: D vitamini düzeyi 10 ng/ml'nin üzerinde ve periodontitisli hastalar

Tablo 11: Gruplara göre cinsiyetin dağılımı

	Kadın	**Erkek**
	n (%)	**n (%)**
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontal sağlıklı	18 (64,3)	10 (35,7)
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontal sağlıklı	16 (55,2)	13 (44,8)
D vitamini seviyesi 10'un altında ve gingivitisli hastalar	30 (78,9)	8 (21,1)
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve gingivitisli hastalar	21 (56,8)	16 (43,2)
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli hastalar	29 (82,9)	6 (17,1)
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli hastalar	24 (72,7)	9 (27,3)
Toplam	138(69)	62(31)
Test istatistiği	10,59	
p	0,06	

*Pearson's ki kare testi, n:hasta sayısı, *p<0,05

Gruplara dayalı olarak cinsiyetin dağılımı arasında istatistiki bakımdan manidar bir fark elde edilmemiştir (p=0,060). Grup 1'in %35,7'si, grup 2'nin %44,8'i, grup 3'ün %21,1'i, grup4'ün %43,2'si, grup 5'in %17,1'i, grup 6'nın %27,3'ü erkektir.

Tablo 12: Gruplara göre yaşın karşılaştırılması

	Ortalama±s.sapma	Ortanca (min. - maks.)
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontal sağlıklı	24,82±4,85	23,00 (19,00 - 42,00)b
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontal sağlıklı	23,69±4,19	23,00 (19,00 - 39,00)b
D vitamini seviyesi 10'un altında ve gingivitisli hastalar	25,00±5,00	23,00 (18,00 - 39,00)b
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve gingivitisli hastalar	25,30±4,44	24,00 (18,00 - 36,00)b
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli hastalar	38,06±6,43	38,00 (25,00 - 52,00)a
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli hastalar	40,88±8,09	42,00 (25,00 - 58,00)a
Toplam	29,75±9,00	25,50 (18,00 - 58,00)
Test istatistiği	114,375	
p	**<0,001**	

Kruskal Wallis testi, a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur, *p<0,05

Gruplara dayalı olarak yaş ortancaları arasında istatistiki bakımdan manidar bir farklılığa rastlanmıştır (p<0,001). Söz konusu farklılık periodontitis hastaları ile diğer gruplar arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Grup 1'in ortancası 23, grup 2'nin ortancası 23, grup 3'ün ortancası 23, grup 4'ün ortancası 24, grup 5'in ortancası 38, grup 6'nın ortancası 42 olarak bulunmuştur.

Tablo 13:PI değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	Ortalama±s.sapma	**Ortanca (min. - maks.)**
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontal sağlıklı	0,46 ± 0,08	0,47 (0,33 - 0,62)ad
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontal sağlıklı	0,36 ± 0,08	0,36 (0,21 - 0,6)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve gingivitisli hastalar	1,37 ± 0,34	1,46 (0,4 - 2,06)b
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve gingivitisli hastalar	1,16 ± 0,32	1,22 (0,3 - 1,67)bd
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli hastalar	2,35 ± 0,26	2,49 (1,91 - 2,8)c
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli hastalar	1,85 ± 0,2	1,86 (1,51 - 2,34)c
Test istatistiği	174,915	
p	**<0,001**	

Kruskal Wallis H testi, a-d: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur, *p<0,05

Gruplara dayalı olarak PI ortanca değerleri arasında istatistiki bakımdan manidar bir farklılığa rastlanmıştır (p<0,001). En düşük ortanca değer D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve sağlıklı grupta 0,36 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10'un altında ve sağlıklı grupta 0,47 olarak elde edilmiştir. En yüksek ortanca değer D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli grupta 2,49 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli grupta 1,86 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı, gingivitis ve periodontitis grupları kendi içinde PI ortanca değerleri, D vitamini seviyeleri 10 ng/ml'nin altında olanlar 10 ng/ml'nin üstünde olanlardan her 3 grupta da daha yüksek elde edilmiştir ancak istatistiki bakımdan manidar bir farklılık bulunmamaktadır.

Tablo 14:GI değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	Ortalama±s.sapma	**Ortanca (min. - maks.)**
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontal sağlıklı	0,48 ± 0,08	0,48 (0,35 - 0,62)ad
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontal sağlıklı	0,37 ± 0,05	0,36 (0,3 - 0,49)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve gingivitisli hastalar	1,39 ± 0,31	1,46 (0,51 - 1,76)be
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve gingivitisli hastalar	1,14 ± 0,3	1,2 (0,33 - 1,54)bd
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli hastalar	2,23 ± 0,18	2,31 (1,86 - 2,51)c
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli hastalar	1,69 ± 0,25	1,52 (1,45 - 2,23)ce
Test istatistiği	173,822	
p	**<0,001**	

Kruskal Wallis H testi, a-e: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir farklılık bulunmamaktadır, *p<0,05

Gruplara dayalı olarak GI ortanca değerleri arasında istatistiki bakımdan manidar bir farka rastlanmıştır (p<0,001). En düşük ortanca değer D vitamini seviyesi 10’un üstünde ve sağlıklı grupta 0,36 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10’un altında ve sağlıklı grupta 0,48 olarak elde edilmiştir. En yüksek ortanca değer D vitamini seviyesi 10’un altında ve periodontitisli grupta 2,31 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10’un üstünde ve periodontitisli grupta 1,52 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı, gingivitis ve periodontitis grupları kendi içinde GI ortanca değerleri, D vitamini seviyeleri 10 ng/ml’nin altında olanlarda 10 ng/ml’nin üstünde olanlardan her 3 grupta da daha yüksek elde edilmiştir ancak istatiksel bakımdan manidar bir farklılık yoktur.

Tablo 15: Sondalanabilir cep derinliklerinin (SCD) gruplara göre karşılaştırılması

	Ortalama±s.sapma	**Ortanca (min. - maks.)**
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontal sağlıklı	1,84 ± 0,1	1,86 (1,54 - 2,02)a
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontal sağlıklı	1,88 ± 0,13	1,91 (1,66 - 2,09)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve gingivitisli hastalar	1,89 ± 0,08	1,9 (1,69 - 2,06)a
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve gingivitisli hastalar	1,86 ± 0,12	1,9 (1,55 - 2,09)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli hastalar	3,41 ± 0,74	3,56 (2 - 4,85)b
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli hastalar	3,23 ± 0,75	3 (1,97 - 5,65)b
Test istatistiği	133,652	
p	**<0,001**	

Kruskal Wallis H testi, a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur, *p<0,05

Gruplarına göre sondalanabilir cep derinliklerinin ortanca değerleri arasında istatistiki açıdan kayda değer bir farklılığa rastlanmıştır (p<0,001). En yüksek ortanca değer D vitamini seviyesi 10 ng/ml'in altında periodontitisli hastalar grubunda 3,56 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin üstünde periodontitisli hastalar grubunda 3 olarak elde edilmiş olup bu gruplar diğer gruplara göre farklılık göstermiştir. Sağlıklı, gingivitis ve periodontitis grupları kendi içinde cep derinlikleri ortanca değerleri açısından, D vitamini seviyeleri 10 ng/ml'nin altında olanlarla 10 ng/ml'nin üstünde olanlar arasında istatiksel bakımdan anlamlı bir fark yoktur.

Tablo 16: Klinik ataşman kaybı (KAK) değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	Ortalama±s.sapma	**Ortanca (min. - maks.)**
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontal sağlıklı	0 ± 0	0 (0 - 0)a
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontal sağlıklı	0 ± 0	0 (0 - 0)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve gingivitisli hastalar	0 ± 0	0 (0 - 0)a
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve gingivitisli hastalar	0 ± 0	0 (0 - 0)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli hastalar	2,2 ± 0,84	2,34 (0,39 - 4,2)b
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli hastalar	2,18 ± 1,12	1,81 (0,89 - 4,82)b
Test istatistiği	188,158	
p	**<0,001**	

Kruskal Wallis H testi, a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir farklılık yoktur, *p<0,05

Gruplarına göre klinik ataşman kaybı ortanca değerleri arasında istatistiki bakımdan kayda değer bir farklılığa rastlanmıştır (p<0,001). En yüksek ortanca değer D vitamini seviyesi 10 ng/ml'in altında periodontitisli hastalar grubunda 2,34 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin üstünde periodontitisli hastalar grubunda 1,81 olarak elde edilmiş olup bu gruplar diğer gruplara göre farklılık göstermiştir. Diğer gruplara ait ortanca değerde 0 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı, gingivitis ve periodontitis grupları kendi içinde klinik ataşman kaybı ortanca değerleri açısından, D vitamini seviyeleri 10 ng/ml'nin altında olanlarla 10 ng/ml'nin üstünde olanlar arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

Tablo 17: DOS hacmi değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	Ortalama±s.sapma	**Ortanca (min. - maks.)**
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontal sağlıklı	51,43 ± 13,63	49 (30 - 100)ab
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontal sağlıklı	41,93 ± 5,59	42 (32 - 52)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve gingivitisli hastalar	62,76 ± 11,47	62 (41 - 91)b
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve gingivitisli hastalar	59,95 ± 14,39	55 (43 - 101)b
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli hastalar	103,8 ± 12,89	108 (72 - 130)c
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli hastalar	91,39 ± 16,12	93 (57 - 121)c
Test istatistiği	146,834	
p	**<0,001**	

Kruskal Wallis H testi, a-c: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur, *p<0,05

Gruplara çerçevesinde DOS hacmi ortanca değerleri arasında istatistiksel olarak kayda değer bir farklılık bulunmuştur (p<0,001). En düşük ortanca değer D vitamini seviyesi 10’un üstünde ve sağlıklı grupta 42 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10’un altında ve sağlıklı grupta 49 olarak elde edilmiştir. En yüksek ortanca değer D vitamini seviyesi 10’un altında ve periodontitisli grupta 108 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10’un üstünde ve periodontitisli grupta 93 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı, gingivitis ve periodontitis grupları kendi içinde DOS hacmi ortanca değerleri, D vitamini seviyeleri 10 ng/ml’nin altında olanlarda 10 ng/ml’nin üstünde olanlardan her 3 grupta da daha yüksek elde edilmiştir ancak istatiksel bakımdan kayda değer bir farklılık yoktur.

Tablo 18: DOS örneği alınan dişin cep derinlikleri değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	Ortalama±s.sapma	**Ortanca (min. - maks.)**
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontal sağlıklı	2,25 ± 0,39	2,16 (1,66 - 2,83)a
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontal sağlıklı	2,23 ± 0,38	2,33 (1,33 - 2,83)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve gingivitisli hastalar	2,42 ± 0,3	2,5 (1,66 - 2,83)a
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve gingivitisli hastalar	2,44 ± 0,3	2,5 (2 - 3)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli hastalar	4,29 ± 1,14	4,5 (2,16 - 7)b
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli hastalar	5,25 ± 6,83	4,16 (2,16 - 43)b
Test istatistiği	115,601	
p	**<0,001**	

Kruskal Wallis H testi, a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir farklılık bulunmaktadır, *p<0,05

Gruplarına göre DOS örneği alınan dişin cep derinlikleri ortanca değerleri arasında istatistiki bakımdan kayda değer bir farklılık vardır (p<0,001). En yüksek ortanca değer D vitamini seviyesi 10 ng/ml'in altında periodontitisli hastalar grubunda 4,5 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin üstünde periodontitisli hastalar grubunda 4,16 olarak elde edilmiş olup bu gruplar diğer gruplara göre farklılık göstermiştir. Sağlıklı, gingivitis ve periodontitis grupları kendi içinde DOS örneği alınan dişin cep derinlikleri ortanca değerleri açısından , D vitamini seviyeleri 10 ng/ml'nin altında olanlar ve 10 ng/ml'nin üstünde olanlar arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

Tablo 19: Sondalamada kanama(SK) değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	Ortalama±s.sapma	**Ortanca (min. - maks.)**
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontal sağlıklı	7,54 ± 1,69	7,73 (3,57 - 10,11)a
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontal sağlıklı	5,04 ± 1,78	5,12 (2,38 - 10,71)a
D vitamini seviyesi 10'un altında ve gingivitisli hastalar	52,37 ± 15,09	54,13 (14,28 - 77,38)b
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve gingivitisli hastalar	40,23 ± 11,59	41,07 (11,3 - 61,3)b
D vitamini seviyesi 10'un altında ve periodontitisli hastalar	78,24 ± 5,06	79,49 (63,5 - 91,02)c
D vitamini seviyesi 10'un üstünde ve periodontitisli hastalar	73,04 ± 5,12	74,5 (62,9 - 82,2)c
Test istatistiği	179,928	
p	**<0,001**	

Kruskal Wallis H testi, a-c: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur, *p<0,05

Gruplara dayalı olarak BOP ortanca değerleri arasında istatistiki bakımdan anlamlı bir farka rastlanmıştır (p<0,001). En düşük ortanca değer D vitamini seviyesi 10’un üstünde ve sağlıklı grupta 5,12 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10’un altında ve sağlıklı grupta 7,73 olarak elde edilmiştir. En yüksek ortanca değer D vitamini seviyesi 10’un altında ve periodontitisli grupta 79,49 ve buna benzer olarak D vitamini seviyesi 10’un üstünde ve periodontitisli grupta 74,5 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı, gingivitis ve periodontitis grupları kendi içinde SK ortanca değerleri, D vitamini seviyeleri 10 ng/ml’nin altında olanlarda 10 ng/ml’nin üstünde olanlardan her 3 grupta da daha yüksek elde edilmiştir ancak istatiksel bakımdan kayda değer bir farklılık yoktur.

Tablo 20a : Teşhis ve D vitamini seviyelerine göre MMP-9 değerlerinin karşılaştırılması

	Test istatistiği	p
Teşhis	92,2	**<0,001**
D vitamini seviyesi	37,5	**<0,001**
Teşhis*D vitamini	44,5	**<0,001**

İkili yönlü Robust ANOVA

Tablo 20b : Teşhis ve D vitamini konsantrasyonlarına göre MMP-9 değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve çoklu karşılaştırma sonuçları

Teşhis	D vitamini					
	<10 ng/ml		>10 ng/ml		Toplam	
	Ortalama ±s. sapma	Ortanca (min. - maks.)	Ortalama±s. sapma	Ortanca (min. - maks.)	Ortalama±s. sapma	Ortanca (min. - maks.)
Sağlıklı	13,24±5,10	12,77 (3,95 - 19,58)A	9,83±5,86	8,94 (1,36 - 19,61)A	11,51±5,72	11,50 (1,36 - 19,61)c
Gingivitis	27,86±7,54	28,26 (5,23 - 39,43)C	20,39±6,38	20,00 (3,95 - 37,32)D	24,18±7,90	23,13 (3,95 - 39,43)a
Periodontitis	117,88±83,77	98,66 (42,58 - 505,66)B	56,62±23,39	45,09 (37,20 - 120,13)E	88,15±69,09	73,79 (37,20 - 505,66)b
Toplam	55,00±67,57	29,95 (3,95 - 505,66)	29,37±24,43	20,96 (1,36 - 120,13)	42,32±52,47	25,20 (1,36 - 505,66)

a-c: Aynı harfe sahip teşhisler arasında bir fark yoktur, A-E: Anı harfe sahip Teşhis ve D vitamini etkileşim grupları arasında bir fark yoktur

Teşhislere göre MMP-9 ortanca değerleri arasında istatistiki bakımdan kayda değer bir farklılık elde edilmiştir (p<0,001). Söz konusu fark her bir teşhis grubunun birbirine göre farklılık göstermesinden kaynaklanmaktadır. Periodontal sağlıklı grubun ortancası 11,50, gingivitis grubunun ortancası 23,13, periodontis grubunun ortancası 73,79 olarak elde edilmiştir. D vitamini gruplarına göre MMP-9 ortanca değerleri arasında istatistiki bakımdan kayda değer bir farklılık elde edilmiştir (p<0,001). D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin altında olanlar grubunun ortancası 29,95 iken D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin üstünde olanlar grubunun ortancası 20,96 olarak elde edilmiştir. Teşhis ve D vitamini seviyeleri grup etkileşimine göre MMP-9 ortancaları arasında istatistiki bakımdan kayda değer bir farklılık elde edilmiştir (p<0,001). Periodontal sağlıklı grubun D vitamini seviyesi 10'un üstünde olanların ortancası 8,94, D vitamini 10'un altında olanlar grubunun ortancası 12,77 olarak elde edilmiştir. Gingivitis grubunun D vitamini 10'un altında grubunda ortancası 28,26, D vitamini seviyesi 10'un üstünde grubunda ortancası 20,00 olarak elde edilmiştir. Periodontitis grubunun D vitamini

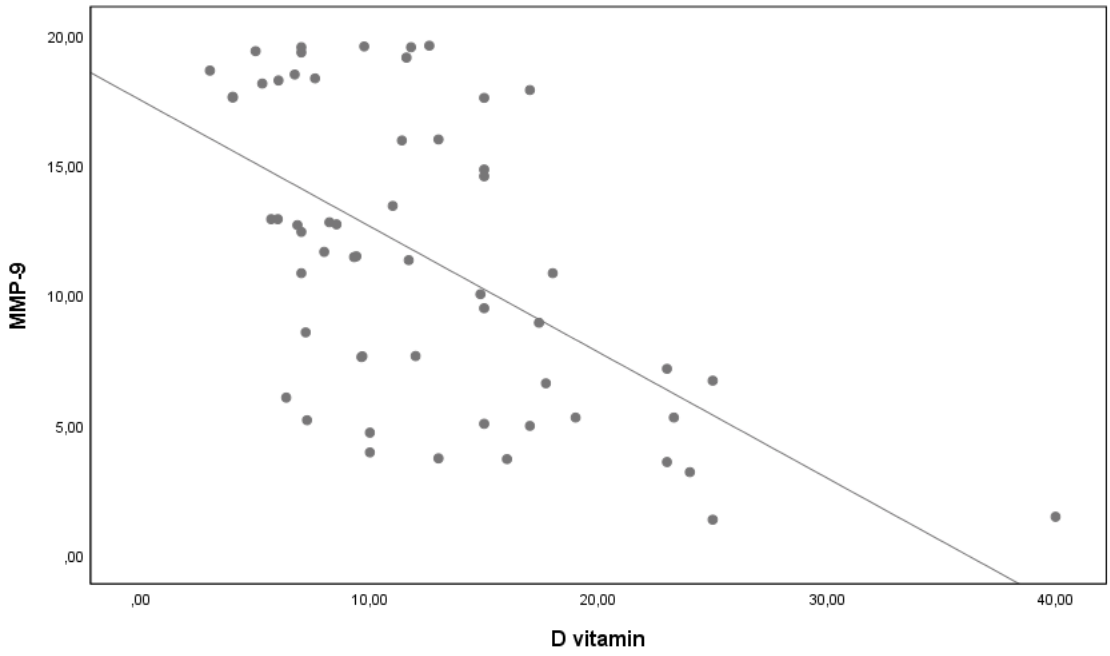
seviyesi 10'un altında olanlar grubunda ortancası 98,66, D vitamini 10'un üstünde olanlar grubunda ortancası 45,09 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı grubun D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin altında ve üstünde grupları arasında anlamlı bir fark yok iken diğer etkileşim grupları arasında istatistiki bakımdan kayda değer bir farklılık elde edilmiştir (p<0,001).

Tablo 21: D vitamini ve MMP-9 seviyeleri arasındaki ilişkinin incelenmesi

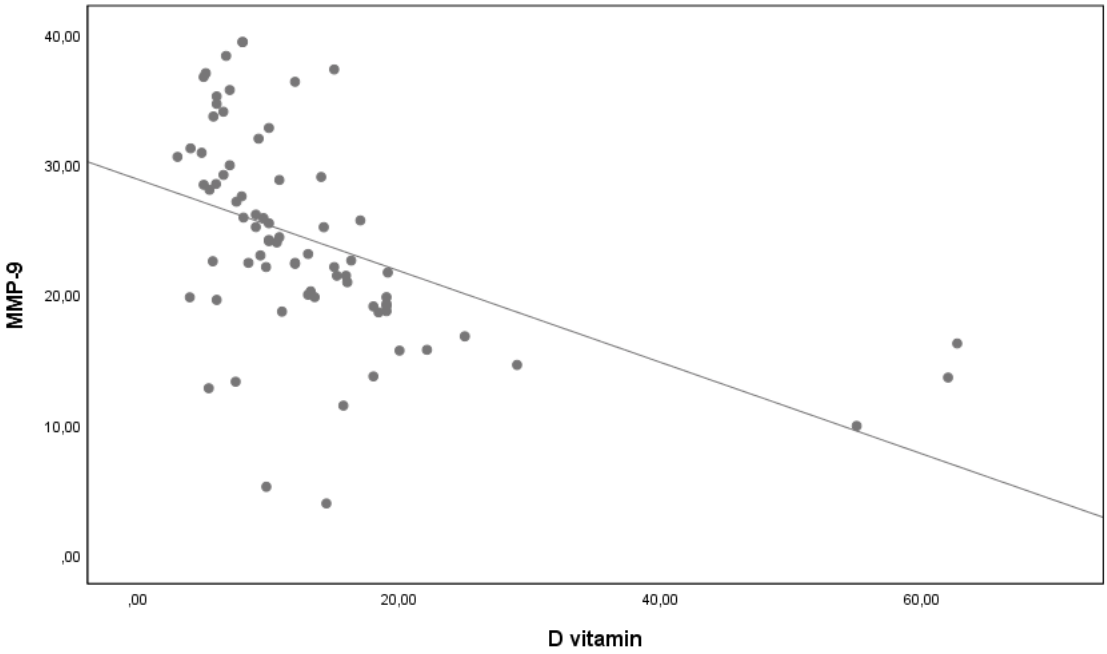
Teşhis		**MMP-9**		**Determinasyon katsayısı (R2)**
		r	**p**	
Sağlıklı	**D vitamin**	-0,552	**<0,001**	0,305
Gingivitis	**D vitamin**	-0,619	**<0,001**	0,383
Periodontitis	**D vitamin**	-0,699	**<0,001**	0,489

r: Spearman's rho korelasyon katsayısı

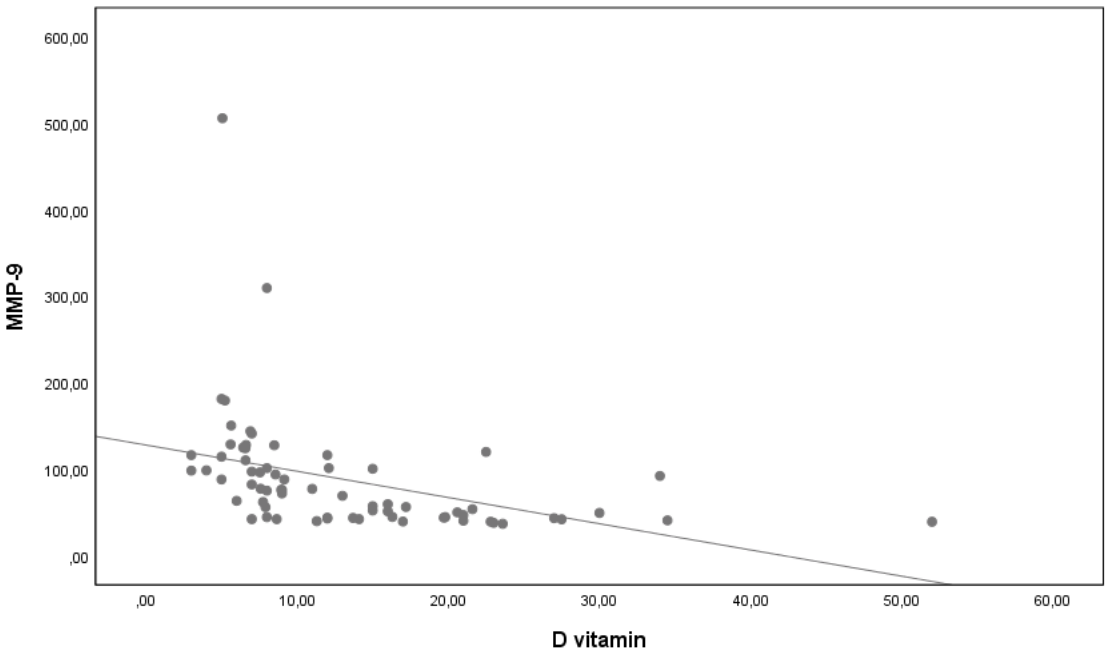
Periodontal sağlıklı grubun içerisinde MMP-9 ile D vitamini arasında istatiki bakımdan kayda değer negatif yönde orta şiddette bir ilişki elde edilmiştir (r=-0,552; p<0,001). Gingivitis grubunda MMP-9 ile D vitamini arasında istatiki bakımdan kayda değer negatif yönde orta şiddette bir ilişki elde edilmiştir (r=-0,619; p<0,001). Periodontitis grubunda MMP-9 ile D vitamini arasında istatiki bakımdan kayda değer negatif yönde orta şiddette bir ilişki elde edilmiştir (r=-0,619; p<0,001).



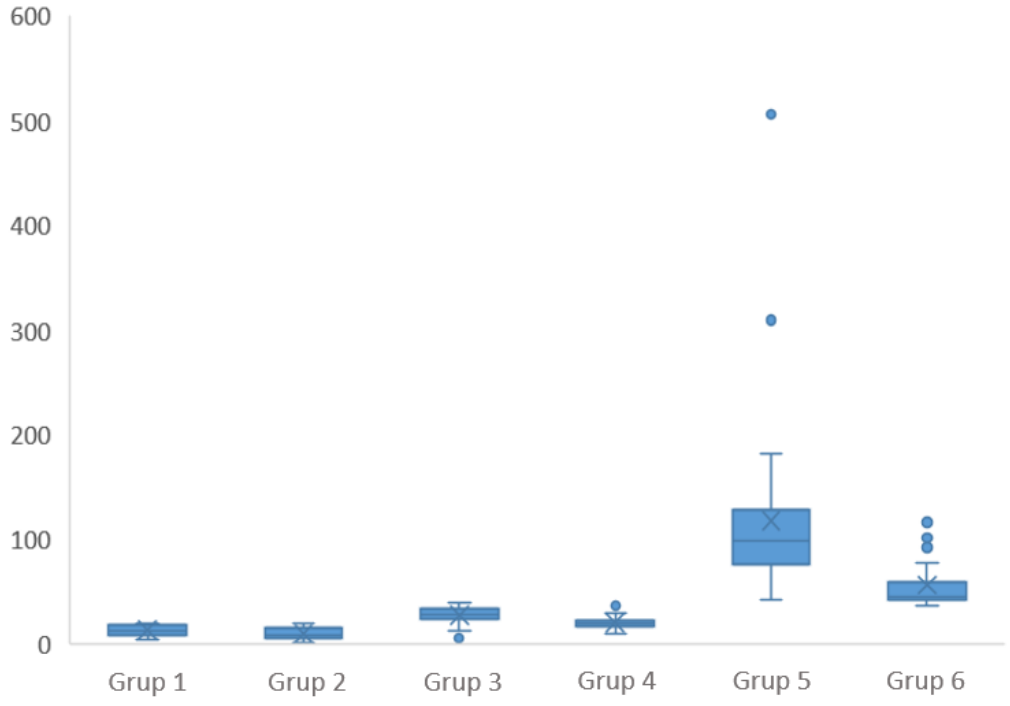
Şekil 7: Periodontal Sağlıklı Grupta MMP-9 ile D Vitamini Seviyeleri Arasındaki İlişkinin Saçılım Grafiği ile Gösterimi



Şekil 8: Gingivitis Grubunda MMP-9 ile D Vitamini Seviyeleri Arasındaki İlişkinin Saçılım Grafiği ile Gösterimi



Şekil 9: Periodontitis Grubunda MMP-9 ile D Vitamini Seviyeleri Arasındaki İlişkinin Saçılım Grafiği ile Gösterimi



Şekil 10: Gruplara Göre MMP-9 Değerlerine Ait Kutu Grafiği

5.TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar, diş destek dokularını etkileyen, etiyolojik faktörü mikrobiyal dental plak olan, tedaviyle kontrol altına alınamazsa ilerleyici ve dentisyon kaybına kadar varan sonuçları olabilen kronik iltihabi hastalıklardır [3]. Periodontal hastalıklar multifaktöriyel hastalıklar olmakla beraber periodontal hastalıkların birçok sistemik rahatsızlıklara/durumlara katkıda bulunduğu veya sistemik rahatsızlıkların periodontal hastalığa etki ettiği gösterilmiştir. Bu beraberlikler periodontal hastalıkların doğasından kaynaklanmaktadır. Çeşitli sistemik hastalıkların varlığı periodontal hastalıklara sebep olabilir veya sistemik hastalığın bir belirtisi olmayan periodontal bir hastalığın tedavi sonucunu da etkileyebilir [4]. Bu nedenle periodontal hastalıkların tanısı ve tedavi esnasında sistemik hastalık ve durumların da göz önünde bulundurulması oldukça önemlidir.

D vitamini; yağda eriyen vitaminler arasında yer almakta olup aynı zamanda endojen olarak uygun biyolojik ortamda sentezlenebildikleri için hormon ve hormon öncüleri olan bir grup steroldür. En önemli etkisi kalsiyum, fosfor metabolizması ve kemik mineralizasyonu üzerinedir [5]. Bununla birlikte son yıllarda, D vitamini eksikliği ve yetersizliğinin yaygın kanserler, kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, enfeksiyöz ve otoimmun hastalıkların dahil olduğu bir çok kronik hastalıkla ilişki içinde olduğu bulunmuştur. Ayrıca kemik metabolizması ve periodontal sağlık ile de yakından ilişkilidir [6][7][8].

Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada periodontal hastalıkla serum vitamin D düzeyi arasındaki ilişkiye odaklanılmıştır. Kalsiyum ve D vitamini ile diyet takviyesi periodontal sağlığı iyileştirebilir, mandibuladaki kemik mineral yoğunluğunu artırabilir ve alveoler kemik rezorpsiyonunu inhibe edebilir [101]. Garcia ve ark. kalsiyum ve D vitamini takviyesinin, günde 800-1.000 IU'dan daha yüksek dozlarda kullanıldığında periodontal hastalığın şiddetini azaltabileceğini bildirmiştir. Bunun yanı sıra, D vitamininin, kemikle kalsiyum homeostazındaki rolüne ilaveten, bir antienflamatuar

ajan şeklinde işlev gördüğünü, çünkü bağışıklık hücresi sitokin ekspresyonunu inhibe ettiğini ve monosit / makrofajların güçlü bir antibiyotik etkisine sahip moleküller salgılamasına neden olduğunu belirtmişlerdir [9].D vitamini periodontal sağlığın korunmasında çok seviyeli bir role sahiptir.

D vitamininin kemik metabolizması ve kemik yoğunluğuna etkisinin yanı sıra patojenlere karşı epitel savunmasında, antibakteriyel, antienflamatuvar ve konak modülasyonunda rol oynaması ve periodontal sağlık üzerinde önemli etkileri olması nedeniyle çalışmamızda, D vitaminin periodontal dokular üzerindeki etkilerini incelemek ve serum Vitamin D konsantrasyonu ile diş eti oluğu sıvısındaki MMP-9 seviyeleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amaçlanmıştır.

Dietrich vd. serum D vitamini seviyeleriyle ataşman kaybı arasındaki ilişkileri incelemek için NHANES III (Üçüncü Ulusal Sağlık ve Beslenme Muayenesi Araştırması) verilerini kullanarak yaptıkları çalışmada; ırk veya etnik köken, sosyoekonomik durum, kadınlarda östrojen kullanımı, sigara kullanımı ve diş eti kanamasından bağımsız olarak 50 yaş üzeri bireylerde D vitamini ile periodontal ataşman seviyesi arasında ters ilişki bulmuşlardır. D vitamini seviyeleri ne kadar düşük olursa, o kadar fazla ataşman kaybı kaydedilmiştir. Bu ters ilişkiyi D vitamininin antienflamatuar etkilerine bağlamışlardır [277]. 25(OH)D serum konsantrasyonu ve gingival inflamasyon arasındaki ilişkiyi değerlendirdiklerindeyse en yüksek 25 (OH) D serum konsantrasyonlarına sahip kişilerde en düşük seviyelere sahip olanlara nazaran %20 daha az sondalamada kanama değerleri kaydetmişlerdir [8]. Boggess ve ark. tarafından 2011 yılında yapılan çalışma, D vitamininin periodontal sağlığın korunmasında önemli olduğuna dair kanıtları desteklemektedir. Maternal D vitamini durumunun yetersiz olmasının gebelik sırasında orta ila şiddetli periodontal hastalık için bir risk etkeni olduğunu bildirmişlerdir. Orta ila şiddetli periodontal hastalığı olan gebe kadınların serum 25 (OH) D düzeylerini daha düşük saptamışlardır [278].

Alshouibi vd. yaşlı erkeklerde toplam D vitamini alımı ile periodontal sağlık arasındaki ilişkileri incelediklerinde toplam D vitamini alımının şiddetli periodontitis varlığıyla orta-şiddetli kemik kaybı ile ters ilişkili olduğunu bulmuşlardır. İlaveten, günlük 800 IU D vitamini takviyesi alımını, orta ila şiddetli periodontitisi önlemek için eşik değer olduğunu bildirmişlerdir [279].Periodontal sağlık ile D vitaminiyle kalsiyum alımı arasında kritik ilişkiler olduğunu, kalsiyumla D vitamini ile diyet takviyesinin

periodontal sağlığı iyileştirebileceğini, mandibulada kemik mineral yoğunluğunu artırabileceğini ve alveoler kemik rezorpsiyonunu inhibe edebileceğini gösteren benzer birçok çalışma mevcuttur [280][281]. Ayrıca kalsiyum ve D vitamini takviyesi alan periodontal idame hastalarının, almayanlara kıyasla daha iyi periodontal sağlığa (sığ sondalama derinlikleri, daha az kanama, daha düşük gingival indeksi değerleri, daha az furkasyon tutulumu, daha az ataşman kaybı ve daha az alveolar kret yüksekliği kaybı) sahip olduğu gözlenmiştir [9]. Krall ve ark. 65 yaş ve üzeri 145 katılımcıyı izledikleri 5 yıllık takipli bir çalışmada kalsiyum ve D vitamini takviyesi kullanımının diş kaybını önlemede yararlı etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir [282].

Zhan ve ark.(2014) tarafından yapılan 1904 katılımcının olduğu 5 yıllık takipli prospektif bir çalışmada serum 25(OH)D seviyeleri ile klinik ataşman kaybı arasında anlamlı ters ilişki bulmuşlardır. Ayrıca serum 25(OH)D seviyelerindeki her 10 µg/L artışın diş kaybı riskini %13 azalttığını ifade etmişlerdir [283].Koyu tenli, periodontitis hastalarında 12 haftalık 25 (OH) D vitamini takviyesinin sistemik inflamasyonun mediatörleri üzerindeki etkisini araştıran başka bir çalışmada, Serum D vitamini konsantrasyonu artan hastaların periferik kan CD3 ve CD3+CD8+ sitotoksik T lenfosit sayılarının ve tükürük proinflamatuar sitokinlerinin azaldığı gözlenmiştir [284]. Hindistan'da yapılan bir çalışmada periodontitis hastaları iki gruba ayrılarak her iki gruba da başlangıç periodontal tedavileri (oral profilaksi, detertraj, subgingival küretaj, kök yüzeyi düzleştirme) yapıldıktan sonra bir gruba D vitamini ve kalsiyum takviyesi verilirken bir grup hiç takviye kullanmamıştır. 3 ay sonra yapılan ölçümlerde takviye alan grupta kemik dansitesinde anlamlı düzeyde artış ve gingival indeks derecelerinde anlamlı düzeyde azalma kaydedilmiştir [285]. Peric ve ark. serum vitamin D seviyeleri 30 ng/ml olan periodontitisli hastaları 2 gruba ayırıp bir gruba SRP+ D vitamini takviyesi tedavisi uygularken diğer gruba yalnızca SRP uygulamışlardır. 3 aylık ve 6 aylık kontrollerde her iki grupta da sondalamada kanama, plak indeksi ve ataşman kaybı parametrelerinde iyileşme gözlenmişken haftalık 25000 IU D vitamini takviyesi kullanan grupta sondalama derinliğindeki azalmanın daha fazla olduğu kaydedilmiştir [286].

Vitamin D seviyelerinin periodontal iyileşmeye etkisinin değerlendirildiği 2022'de yapılmış bir çalışmada 51 hastada cerrahi olmayan periodontal tedavi öncesi ve 6 ay sonrası hastaların serum D vitamini düzeyleri, periodontal cep derinlikleri ve

sondalamada kanama indeksleri değerlendirilmiştir. Serum D vitamini seviyesi 30 ng/ml ve daha yüksek olan hastalarda cep derinliklerindeki azalmanın istatiksel olarak daha fazla olduğu bulunmuşken, sondalamada kanamada açısından anlamlı bir fark elde edilmemiştir [287].Polonya'da yapılmış bir çalışmada katılımcılar periodontal sağlıklı ve periodontitis olarak iki gruba ayrılmış periodontitisli hastalarda serum 25(OH)D düzeylerinin sağlıklı kişilere nazaran istatiki bakımdan kayda değer derecede düşük olduğu bildirilmiştir. Serum D3 vitamini düzeyleri sondalamada kanama, klinik ataşman seviyesi, sondalama derinliği, alveoler kemik kaybı ve sondalamada kanamadan etkilenen dişlerin yüzdesi, ataşman veya kemik kaybı ile güçlü bir şekilde negatif ilişkili bulunmuştur [288].

Bashutski ve ark. D vitaminini yara iyileşmesi ve enflamasyon üzerine etkilerinden yola çıkarak periodontal cerrahi sonrası D vitamini seviyesinin iyileşmeye olan etkisini değerlendirmek için bir çalışma gerçekleştirmişler ve başlangıç aşamada D vitamini eksikliği olan ve D vitamini takviyesi kullanmayan hastalarda daha az ataşman kazancı elde edildiğini belirtmişlerdir [289].

Kelly ve ark. D vitamininin osseointegrasyon üzerine etkisini incelemişlerdir ve D vitamini eksikliği olan sıçanlar üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Sonuçlar, D vitamini yetersizliğinin implantların osseointegrasyonunu önemli ölçüde etkilediğini göstermiş ve D vitamini eksikliği olan örneklerde SEM analizleri push-in testinden sonra implant yüzeyinin yanında kalan kalsifiye dokuların alışılmadık derecede parçalanmış göründüğünü belirtmişlerdir [290]. Akhavan ve ark., diyabetik sıçanlarda D vitamini takviyesinin osseointegrasyon üzerindeki etkisini değerlendirdikleri bir başka çalışmada ise bir gruba oral D3 vitamini takviyesi aldırılmış, diğer grup ise takviye kullanmamıştır. Yazarlar, D vitamininin üç ve altı haftalık periyotlardan sonra diyabetik sıçanlarda implantların osseointegrasyonu üzerinde hiçbir etkisi olmadığı sonucuna varmışlardır [291].Bu sonuçlar üzerine D vitamini takviyesinin dozu, kullanım süresi, genetik varyasyonlar ve glisemik kontrol derecesi etkili olmuş olabilir.

D vitamininin periodontal sağlığın korunmasındaki kritik rolü, CYP27B1 (1-alfa hidroksilaz) geninin etkisiz hale getirildiği farelerde ligatüre bağlı periodontitis, normal tip farelerde ligatür kaynaklı periodontitis ile karşılaştırıldığında ciddi alveoler kemik kaybı ve diş eti iltihabı ile sonuçlandığı bir çalışmada güçlendirilmiştir. Bununla

birlikte, kalsitriolün eksojen olarak uygulanması, bu farelerde alveoler kemik kaybını ve diş eti iltihabını hafifletmiştir [102].

Hem insan dişeti hücreleri hem de periodontal ligament hücreleri , 25(OH)D3'ün üretiminden sorumlu olan 25-hidroksilaz üretir [103]. Hücre zarı reseptörleri ile mikrobiyal etkileşimi takiben, 25(OH)D3, kalsitriol üretmek için CYP27B1 yoluyla daha fazla hidroksillenir. Aktif hormon daha sonra bağışıklık ve epitel hücrelerinde VDR'ye bağlanır ve böylece patojene karşı epitel savunma mekanizmasına katılır [104]. Kalsitriol, monositler ve makrofajlarda 1-alfa-hidroksilazın ekspresyonunu otokrin bir şekilde kalsitriol üretmek üzere simüle ederek makrofaj kemotaktik ve fagositik aktivitelerini arttırmak için immün hücrelerde (monositler, makrofajlar, dendritik hücreler) VDR'ye bağlanır. Bu da lizozomal enzim aktivitesini ve fagositozu arttırır. Kalsitriol ayrıca diş eti epitel hücrelerinin VDR'sine bağlanır ve böylece istilacı patojenlere karşı epitel savunma mekanizmalarına katılır [105][106][107].

Vitamin D3 güçlü antibakteriyel ve LPS nötralize edici aktiviteye sahiptir [108]. P. gingivalis'in büyümesini direkt olarak inhibe edebilmektedir ve adezinlerle (fimA, hagA ve hagB) proteinazlar (rgpA, rgpB ve kgp) vb. mühim virülans etkenlerinin ekspresyonunu eklektik olarak inhibe edebilmektedir [109]. Ayrıca, P. gingivalis üzerindeki inhibitör etkisi ve aktif otofaji yoluyla inhibisyona aracılık edebileceği gösterilmiştir [110]. Vitamin D3 , β-defensinlerle katelisinler dahil olmak üzere antimikrobiyal peptitlerin üretiminden de sorumludur[111][112].

D vitamininin fizyolojik ve farmakolojik etkilerin VDR'ler aracılığı ile gösterir. Spesifik VDR genotiplerinin periodontitis ile artmış alveoler kemik kaybı, klinik ataşman kaybıyla ve diş kaybıyla ilgili olduğu gösterilmiştir [11][12][13].VDR genindeki Bsml ve Fokl polimorfizmlerinin genel popülasyonda periodontitis gelişme riskinin daha yüksek olması ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir [113].

Çalışmamızın sonuçları, D vitamininin periodontal dokular ve periodontal hastalıklar üzerindeki etkisini inceleyen mevcut literatür sonuçları ile uyuşmaktadır. Bizim çalışmamızda enflamasyon belirteçleri olan PI, GI, SK , DOS hacmi değerleri sağlıklı,gingivitis ve periodontitis grupları içinde serum D vitamini seviyeleri 10 ng/ml’nin üzerinde olanlarda, serum D vitamini seviyeleri 10 ng/ml’nin altında olanlara nazaran daha düşüktür. Ayrıca periodontitis hastalarında cep derinlikleri, klinik ataşman kaybı ve DOS örneği alınan örnek dişin cep derinlikleri ortalaması D vitamini seviyesi

10 ng/ml'nin altında olanlarda D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin üzerinde olanlara göre daha yüksektir. Bu sonuçlar D vitamininin, periodontal hastalıkların seyri ve şiddeti üzerinde etkisi olduğunu ve D vitamini eksikliğinde hastalığın klinik seyrinin daha şiddetli olduğunu destekler niteliktedir.

Matriks metalloproteinaz (MMP)'lar ekstrasellüler matriks (ESM) bileşenlerini yıkıma uğratan, Zn++ ve Ca++'a bağımlı bir nötral endopeptidaz ailesidir. MMP'lerin aktivitesi inflamatuar hücrelerin infiltrasyonu, düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonu gibi aterosklerotik plak oluşumu ile ilişkili birçok süreç için temeldir[158]. MMP'ler; proteinazların 5 alt sınıfından birisi olan metalloproteinazlar enzim ailesindendir. MMP'ler fibroblastlar, epitel hücreleri, osteoblastlar, osteoklastlar, nötrofiller ile makrofajlarca latent formda (proenzim) üretilir. Latent MMP'ler aktive olup matriks yıkımına yol açar [159]. MMP'ler sağlıklı dokularda düşük seviyede sentezlenir. Farklı hormonlar, büyüme faktörleriyle proenflamatuvar sitokinler MMP'lerin aktivitesini arttırır [160]. MMP'ler doku yeniden yapılanması, morfogenezis, yara iyileşmesiyle normal gelişim prosesi vb. fizyolojik hallerde mühim role sahip oldukları gibi tümör hücresi invazyonu, anjiyogenezis ile metastaz gibi patolojik proseslere de katılırlar [158][161][162].

Matriks Metalloproteinaz-9, ana substratı jelatin olan matriks metalloproteinazların jelatinaz alt ailesinin bir üyesi olup keratinositler, monositler, doku makrofajları, polimorfonükleer lökositlerle farklı malign hücreler dahil olmak üzere farklı hücre tipleri tarafından üretilmektedir [190][18][19]. MMP-9, periodontitisli hastalarda inflamasyon ilerlemesinin aşamalarında mevcut olan en yaygın mediatörlerden biri olduğu çeşitli klinik ve preklinik modellerde gösterilmiştir. Periodontal dokular patojenik bakterilere maruz kaldıktan sonra ve konakçı yanıtı sırasında vasküler makrofajlar tarafından MMP-9 salındığı gösterilmiştir ve vasküler homeostazın subklinik bir belirteci olduğu kabul edilmiştir[21][193]. MMP-9 esas olarak PMNL'ler tarafından salgılanır ve dişeti dokularında bulunan kollajen tip IV'ün degregasyonuna neden olur [292].

Çalışmamızda periodontal sağlıklı, gingivitis ve periodontitis hastalarından diş eti oluğu sıvısı toplanarak MMP-9 seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. En yüksek MMP-9 seviyesi periodontitis grubunda, en düşük MMP-9 seviyesi sağlıklı grupta kaydedilmiş olup her üç grup arasında MMP-9 seviyeleri bakımından istatiki bakımdan kayda değer

bir fark bulunmuştur. Bu sonuçlar MMP-9'un DOS düzeylerinin periodontal bozulma için çok önemli bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir. Literatür taramasında periodontal hastalıklarda oral sıvılarda ve dokularda MMP-9 seviyelerinin incelendiği çalışmalarda bizim çalışmamızla benzer sonuçlara rastlanmıştır.

Marcaccini ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 27 kronik periodontitis teşhisi almış ve 15 periodontal sağlıklı bireyden diş eti oluğu sıvısı örnekleri toplanmış, DOS örneklerindeki 87 kDA MMP-9 seviyeleri periodontitisli hasta grubunda kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. Çalışmanın devamında periodontal tedavi sonrasındaki 3 aylık takipte bu seviyenin azaldığı kaydedilmiştir [181]. Rai ve ark. denekleri periodontal sağlıklı, gingivitis ve periodontitis teşhislerine göre 3 gruba ayırmış ve periodontitisli hastalarda, DOS MMP-9 seviyelerini anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir. Ayrıca artmış MMP-9 seviyeleri ile klinik ataşman kaybı ve sondalamada kanama arasında yüksek korelasyon olduğunu bildirmişlerdir [179].Maeso ve ark. da periodontal sağlıklı, gingivitis ve periodontitisli hasta gruplarının DOS örneklerini inceledikleri çalışmada benzer sonuçlar bildirmişlerdir. Bu çalışmada da periodontitisli hastaların DOS örneklerindeki MMP-9 seviyesinin gingivitis ve sağlıklı gruba göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [293].

MMP-9’un periodontal hastalıklarla olan ilişkisini daha iyi anlayabilmek için diş eti oluğu sıvısı dışında dolaşımdaki seviyesi, tükrükteki konsantrasyonu ve epitel örneklerini inceleyen çalışmalarda diş eti oluğu sıvısındakine benzer sonuçlar ortaya konulmuştur. Periodontal hastalığı bulunan ve periodontal sağlıklı bireylerin plazma MMP-9 konsantrasyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, periodontal hastalık tanısı alanların serum MMP-9 seviyesinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu ve bu düzeyin periodontal tedaviden sonra 22. ayda %39 azaldığı bildirilmiştir [183]. Patricio ve ark tarafından yapılan bir çalışmada periodontitis hastalarının enflame diş eti dokusu ve sağlıklı diş eti dokularından biyopsi alınarak MMP-9'un varlığı ve aktivitesi, diş eti dokusu örneklerinin indirekt immünofloresansı ile bağ dokusundan ayrılmış diş eti epitelinin jelatin zimografisinin birleştirilmesiyle değerlendirilmiş ve enflamasyona maruz kalmayan epitelde daha düşük MMP-9 seviyeleri tespit edilmiştir [294]. MMP-9’un periodontal sağlık, periodontal hastalık ve periodontal tedavi sonrası tükrük konsantrasyonlarının incelendiği çalışmada periodontal hastalığın tükrük MMP-9

seviyesini artırdığı ancak periodontal tedavinin bu seviyeyi azalttığı sonucuna ulaşılmıştır [295].

Luchian ve ark. periodontal ve ortodontik tedavinin tükrük MMP-9 seviyesine etkisini değerlendirdikleri bir çalışmada periodontitis hastalarını tedavi almayan, sadece periodontal tedavi alan ve hem periodontal hem de ortodontik tedavi alanlar olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır. Çalışma sonucunda periodontal tedavi almamış periodontitis hastalarında MMP-9 seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ve maloklüzyon arttıkça tükrük MMP-9 seviyelerinin de arttığını gözlemlemişlerdir. Hem periodontal hem de periodontal ve ortodontik tedavilerin kombinasyonunun, tedaviyi almayan hastalara kıyasla tükrük MMP-9 düzeylerini anlamlı olarak düşürmede etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca tek başına periodontal veya kontrol gruplarına kıyasla MMP-9 düzeyleri üzerinde en büyük etkiye sahip olan, periodontal ve ortodontik tedavinin kombinasyonu olduğunu vurgulamışlardır [296].

Meksika'da yapılmış periodontal mikrobiyotanın bileşimi ve diş eti oluğu sıvısındaki TNF-α, MMP-8, MMP-9 seviyesi arasındaki korelasyonu değerlendiren bir çalışmada çelişkili sonuçlara rastlanmıştır. Bu çalışmada DOS MMP-9 seviyeleri periodontitis grubunda sağlık grubundakilere göre daha düşük tespit edilmiştir ve bu durumu kemokinlerin ve anti-inflamatuar sitokinlerin sekresyonu ile konak yanıtında bir anti-inflamatuar süreç ile ilgili olabileceği şeklinde açıklamışlardır [297]. Bu çalışmada grupları oluşturulurken sağlıklı ve gingivitisli hastaların aynı gruba dahil edilip periodontitisli grupla karşılaştırılmıştır. Ayrıca çalışmaya dahil edilme kriterlerinde sigara kullanımının göz önünde bulundurulmaması ve kontrol grubunda sigara içen bireylerin sayısının fazla olması da bu sonuçlara neden olmuş olabilir. Victor ve ark. gerçekleştirdikleri bir araştırmada hastaları sigara içen periodontitis, sigara içmeyen periodontitis ve periodontal sağlıklı olarak 3 gruba ayırmış ve periodontitisli hastaların DOS'taki MMP-9 düzeyleri sağlıklı kohortlardan anlamlı olarak yüksek bulmakla birlikte, sigara içen ve içemeyen kronik periodontitisli hastalar arasında MMP-9 düzeyleri karşılaştırıldığında, istatistiki bakımdan yüksek bir anlamlı fark ($P < 0.0001$) kaydetmişlerdir . Sigara içen periodontitisli hastaların diş eti oluğu sıvısındaki bu yüksek MMP-9 seviyesi, MMP-9'un sigara içenler arasında artmış periodontal bozulmayı modüle eden önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir [298]. Özçaka ve ark. kronik periodontitis ve periodontal sağlıklı bireyleri sigara içen ve içmeyen olarak

alt gruplara ayırıp serum MMP-9 seviyelerini incelediklerinde hem periodontitisli hem de periodontal sağlıklı kişilerde sigara içenlerin serum MMP-9 seviyelerini sigara kullanmayanlara nazaran kayda değer olarak yüksek bulmuşlardır [299].

Mevcut literatürdeki çalışmalar ve bizim çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında MMP-9 aktivitesini inhibe etmeye odaklanan hedefe yönelik tedavi, periodontal hastalıklarının tedavisinde, diş taşı temizliği, kök yüzey düzleştirme ve kemik cerrahisine ek olarak ideal bir terapötik seçenek olabileceğini göstermektedir.

MMP-9 seviyelerinin periodontal yıkımda arttığı ve D vitaminin periodontal dokular üzerinde epitel bariyerini koruyucu ve antienflamatuvar özellikleri göz önüne alınarak çalışmamızda serum D vitamini seviyeleri ile diş eti oluğu sıvısındaki MMP-9 konsantrasyonları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Sonuçlarımıza dayalı olarak periodontal sağlıklı, gingivitis ve periodontitis olarak 3 grupta da MMP-9 ile D vitamini seviyeleri arasında istatiksel bakımdan kayda değer negatif yönlü orta şiddette bir ilişkiye ulaşılmıştır. Farklı periodontal hastalıklarda DOS, serum, tükürük örneklerinde MMP-9 seviyelerini ele alan birçok çalışma bulunmasına karşın çalışmamız vitamin D düzeyinin DOS MMP-9 düzeylerine etkisini inceleyen ilk çalışmadır. Mevcut literatürde D vitamini seviyesi ile MMP-9 düzeyleri arasındaki ilişkiyi doku örnekleri ile ve farklı tıbbi durumlar açısından değerlendiren çalışmalara rastlanmaktadır.

Shany ve ark yaptıkları bir çalışmada TNF-a ile muamele edilen keratinositlerde MMP-9'un D vitamini ile modülasyonunu incelemişlerdir. İnsan keratinosit hücre hattının kullanıldığı çalışmada TNF-a'ya maruz kalmanın, MMP-9'un protein ve mRNA seviyelerini belirgin şekilde arttırırken, kalsitriol dozu ile ön tedavinin bu etkiyi azalttığı gözlenmiştir. TNF-a tarafından MMP-9'un indüksiyonunun epidermal büyüme faktörü reseptörü, c-Jun-N-terminal kinaz (JNK), NFκB ve hücre dışı sinyal regüle kinaz-1/2'nin aktivitesine bağlı olduğu ve D vitaminin etkisi, TNF-a uygulamasını takiben JNK aktivasyonunun inhibisyonu ve transkripsiyon faktörleri aktivatör protein-1 (AP-1) ve NFκB'nin DNA bağlanma aktivitelerinin azaltılması ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [300]. Bu bulgular neticesinde D vitamininin MMP-9 seviyelerini downregüle ederek kutanöz inflamasyonla ilişkili aşırı TNF-a kaynaklı proteolitik aktivitenin zararlı etkileri azaltabileceği sonucuna varılmıştır.

Seul'de yapılan bir çalışmada insan diş eti biyopsileri kullanılarak D vitamininin diş eti keratinositleri arasındaki E-kadherin bağlantılarını güçlendirmedeki etkisi

araştırılmıştır. Enflamasyonu taklit etmek için TNF-α ile muamele edilen keratinosit hücrelerinde E-kadherin bağlantılarında ayrışma ve MMP-9 ekspresyonunda artış görülmüş, artan MMP-9 seviyeleri E-kadherinlerin gelişimini azaltmıştır. D vitaminin ise MMP-9 üretimini , TNF-α kaynaklı E-kadherin ayrışmasını azaltarak epitel bariyerini koruduğu gözlenmiştir [105].

İran'da yapılan bir çalışmadan koroner arter hastalığı bulunan ve bulunmayan bireylerde serum 25(OH)D vitamini, MMP-9 seviyeleriyle VDR gen polimorfizmi değerlendirilmiştir. Koroner arter hastalığı olan grupta olmayanlara kıyasla serum D vitamini seviyesi anlamlı derecede düşük ve MMP-9 seviyesi anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir. MMP-9 konsantrasyonu ile hastaların 25(OH) D vitamini seviyeleri arasında da kayda değer bir ters korelasyon bulunmuştur [301]. Wasse ve ark , Son dönem böbrek yetmezliği hastalarının serum örneklerini incelediklerinde 25(OH)D seviyeleri ile MMP-9 seviyeleri arasında anlamlı ters korelasyon bildirmişler ve bu bulguların dolaşımdaki düşük 25 (OH) D'nin kardiyovasküler bir risk faktörü olarak işlev gördüğü potansiyel bir mekanizma olabileceğini belirtmişlerdir [302].Anand ve ark. pulmoner tüberkülozlu hastalarının kan örneklerini incelediklerinde D vitamininin MMP-9 üretimini baskılayarak patolojik süreçte önemli bir rol oynayabileceğini bildirmiştir [303]. Benzer şekilde Kim ve ark. insan fibroblast hücre kültürlerini inceledikleri çalışmasında IL-1β'nın MMP-9 üretimini ve mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde uyardığını ve MMP-9 mRNA'nın ekspresyonunun 25 (OH) D ve 1,25 (OH)2 D tarafından önemli ölçüde inhibe edildiğini gözlemlemişlerdir [304].

Bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmamız ile uyuşmakta ve serum D vitamini konsantrasyonları ile MMP-9 seviyeleri arasında negatif korelasyonu ifade etmektedir. Bizim çalışmamızın sonuçları da D vitamininin, MMP-9 seviyelerine etki ederek periodontal dokuların bütünlüğünün korunmasında rolü olabileceğini göstermiştir.

Diş eti oluğu sıvısı (DOS) kan plazmasından köken alan, diş eti oluğunda farklı komposizyonlarda bulunan ve diş eti oluğunun ekolojisini belirleme özelliğine sahip eksuda özelliklerini taşıyan bir biyolojik sıvıdır [25]. DOS'un tanı ve prognoz açısından önemi; diş eti hastalıklarının şiddetini, periodontal tedavinin ve ağız hijyeninin etkinliğini, diş eti cerrahisi sonrası iyileşmeyi ve ağız hijyeninin etkinliğini, lokal yıkım oranını, birleşim ve sulkuler epitelin geçirgenliğini ve periodontal ve sistemik

hastalıklar arasındaki ilişkiyi değerlendirme açısından bilgi sunan bir biyobelirteç olmasıdır [27]. İnflamasyon esnasında, sitokinler, proteinler, proteinazlar, fosfatazlar ve lokal doku parçalanma ürünleri gibi çok sayıda hücre ve inflamatuar faktör, DOS'a salınır. Böylece diş eti oluğu sıvısının içeriği, elektrolitler, küçük organik moleküller, proteinler, sitokinler, spesifik antikorlar, bakteriyel antijenler ve hem konakçı hem de bakteriyel kökenli enzimler dahil olmak üzere kan, konakçı dokular ve subgingival biyofilmden kaynaklanan moleküllerin bir karışımı haline gelir. Bu bileşim, dişeti sulkusunun epitel astarının düşük molekül ağırlıklı bileşiklere geçirgen olduğunu ve doku sıvısının sulkusa geçişinin, kreviküler ortamın homeostazında önemli bir rol oynayabilecek olası bir savunma mekanizması olarak hareket ettiğini açıkça göstermektedir[26]. DOS incelenerek yapılan periodontal tanı yöntemlerinin amacı, klinisyene mevcut periodontal hastalığın lokalizasyonu ve şiddeti hakkında yararlı bilgiler sağlamaktır [305].

Diş eti oluğu sıvısı, oral kavitedeki inflamasyon ve kemik rezorpsiyonunun biyobelirteçlerini örneklemek için invaziv olmayan, etkili ve kullanımı kolay bir yaklaşım sunan ve aktif iltihaplı bölgeleri ayırt etmeye ve gelecekteki doku yıkımını tahmin etmeye ve periodontitisin erken belirtilerini teşhis etmeye yardımcı olan önemli bir periodiagnostik araçtır. Ayrıca DOS incelemesi sayesinde periodontal hastalık tedavisi için konakçı modülatör ilaçlar yoluyla yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine ve yeni biyobelirteçlerin keşfedilmesi sağlanabilir ve ağız sağlığı için daha bireyselleştirilmiş, hedefe yönelik tedavilere olanak tanınabilir. DOS'un tanısal bir belirteç olarak en büyük cazibesi, numunenin bölgeye özgü olmasıdır. Ayrıca, tanısal bir belirteç olarak DOS, kapsamlı klinik hasar oluşmadan önce bir hastalık sürecinin varlığını gösterebilir. Diş eti oluğu sıvısı örneklerinin kullanımı, toplaması basit, yöntemin güvenilir ve düşük maliyetli olması nedeniyle yöntemin diğer avantajlarıdır [306]. Bu nedenle çalışmamızda MMP-9 seviyelerinin tayini için hasta gruplarından elde edilen diş eti oluğu sıvısı örneklerinden yararlanılmıştır.

Günümüze kadar yapılan birçok çalışmada sigaranın, tüketim sıklığına da bağlı olarak, periodontal hastalıklar açısından bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir. 1995 yılında yaşları 25-74 arasındaki 1361 katılımcıyla yapılan bir çalışmada sigara içenlerde artmış kemik kaybı riski ortaya konulmuştur [307].10 yıllık takipli bir çalışmada sigara içmenin alveolar kemik kaybı açısından önemli bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir

[308]. Başka bir 10 yıllık prospektif çalışmada sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla anlamlı derecede daha fazla periodontal kemik kaybı kaydedilmiştir [309]. Ayrıca 800 katılımcı ile gerçekleştirilen 5 yıllık takipli bir çalışmada sigara içmenin periodontal ataşman kaybını arttırdığı bildirilmiştir [310]. Doz-yanıt çalışmalarında sigara içmenin sıklığı arttıkça alveolar kemik kaybı ve ataşman kaybı risklerinin de arttığı gösterilmiştir [307]. Tomar ve Asma, günde 31 tane ve üstünde sigara içenlerin periodontal hastalık riskinin 5,6 oranında, 9 adet ve altı sigara içen bireylerin ise 2,8 oranında arttığını bildirmişlerdir [311]. Pek çok çalışmada sigara içenlerin daha patojenik bir mikrofloraya sahip olduğu da tespit edilmiştir [307][312]. Umeda ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada sigara içenlerde Treponema denticola barındırma riskinde artış gözlenmiştir [313]. Nikotin periferik kan damarlarında vazokonstriksiyona neden olabilir [314], bu da diş eti iltihabının klinik belirtilerini azaltabilir. Bergstrom, sigara içenlerin ve içmeyenlerin ağız hijyeni müdahale programına uyumunu karşılaştırmış, böylece ağız hijyenini kontrol etmiş ve sigara içenlerde aynı plak indeksleriyle bile sigara içmeyenlere göre önemli ölçüde daha az dişeti kanaması olduğunu göstermiştir [315]. Kinane ve Radvar, diş eti oluğu sıvısı hacimlerinin sigara içenler arasında aynı cep derinliğine sahip sigara içmeyenlere göre anlamlı derecede düşük olduğunu bildirmiştir [224].

Yapılan çalışmalar neticesinde sigaranın hem periodontal hastalığın seyrine ve teşhise yardımcı parametrelere etkisi olduğu görülmektedir. Ayrıca diş eti oluğu sıvısı hacmini ve DOS'taki MMP-9 seviyelerini değiştirebildiği de gösterilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda hiçbir gruba sigara içen bireyler dahil edilmemiştir.

Çalışmamızın sonuçları ve literatürdeki benzer çalışmaların sonuçlarına göre; D vitamini eksikliğinin periodontal hastalıkların oluşumunu ve prognozunu etkileyebileceği görülmüştür. Antienflamatuvar etkileri sayesinde D vitamininin, DOS MMP-9 seviyesini azaltarak periodontal doku bütünlüğünün korunmasında da önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

6.SONUÇLAR

Serum D vitamini düzeyinin periodontal dokular üstündeki etkisiyle periodontal hastalıklarda DOS MMP-9 düzeyi ile ilişkisini değerlendiren çalışmamızda;

1)PI, GI, SK, DOS hacmi ve DOS MMP-9 seviyeleri sırasıyla en yüksek periodontitisli hastalarda sonrasında gingivitis ve en düşük periodontal sağlıklı bireylerde kaydedilmiştir.

2)Bir yıkım mediatörü olan MMP-9'un periodontitiste diş eti oluğu sıvısındaki konsantrasyonunun artışı; DOS MMP-9 seviyesinin periodontal doku yıkımının önemli bir biyobelirteci olabileceği göstermiştir.

3)Diş eti oluğu sıvısı MMP-9 değerinin ölçümü minimal invaziv bir yöntem olup tanıya yardımcı ve klinik takip için ek bilgi olarak değerli bir yöntem olabilir.

4)MMP-9 aktivitesini inhibe etmeye odaklanan hedefe yönelik tedavinin, periodontal hastalıklarının tedavisinde, diş taşı temizliği, kök yüzey düzleştirme ve kemik cerrahisine ek olarak ideal bir terapötik seçenek olabileceği düşünülmektedir.

5) PI, GI, SK ve DOS hacmi periodontal sağlıklı, gingivitis ve periodontitis olmak üzere her 3 grupta da D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin atında olan bireylerde 10 ng/ml'nin üstünde olan bireylere göre daha yüksek elde edilmiştir.

6)Periodontitis hastalarında SCD ve KAK, D vitamini seviyesi 10 ng/ml'nin atında olan bireylerde 10 ng/ml'nin üstünde olan bireylere göre daha yüksek kaydedilmiştir.

7)Hem periodontal sağlıklı, hem gingivitis hem de periodontitis hastalarında yüksek serum D vitamini seviyelerinin DOS MMP-9 seviyelerinde azalmayı sağladığı gözlenmiştir.

8)D vitamini seviyelerinin periodontal hastalıkların ilerleme hızına, şiddetine ve doku yıkımına neden olan mediatörlerin salınımına etki edebileceği görülmüştür.

9)D vitamini eksikliğinin ağız içi dokuları da etkilediği konusunda toplumsal bilincin oluşturulmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

10)Çalışmamızın sonuçları, mevcut literatürde D vitamininin periodontal dokular üzerindeki etkisini inceleyen diğer çalışmalarla uyumludur. Ayrıca serum D vitamini seviyeleri ile DOS MMP-9 düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmadır.

11)Çalışmamız kesitsel bir çalışma olup mevcut veriler belli bir zaman dilimindeki hasta grubundan elde edilmiştir. Bulgularımızı destekleyecek bağımsız uzun dönemli çalışmalara ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

[1] N. P. Lang and P. M. Bartold, “Periodontal health,” *J. Periodontol.*, vol. 89, pp. S9–S16, Jun. 2018, doi: 10.1002/JPER.16-0517.

[2] J. G. Caton *et al.*, “A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification,” *J. Periodontol.*, vol. 89, no. S1, pp. S1–S8, Jun. 2018, doi: 10.1002/JPER.18-0157.

[3] D. F. Kinane, P. G. Stathopoulou, and P. N. Papapanou, “Periodontal diseases,” *Nat. Rev. Dis. Prim. 2017 31*, vol. 3, no. 1, pp. 1–14, Jun. 2017, doi: 10.1038/nrdp.2017.38.

[4] L. Winning, “Periodontitis and systemic disease Genetic and Microbial profiles of Sudanese aggressive periodontiontitis subjects View project Bio_Endo View project,” 2015, doi: 10.1038/bdjteam.2015.163.

[5] G. N. Antonoglou *et al.*, “Low serum level of 1,25(OH)2D is associated with chronic periodontitis,” *J. Periodontal Res.*, vol. 50, no. 2, pp. 274–280, Apr. 2015, doi: 10.1111/JRE.12207.

[6] P. Lips, “Vitamin D physiology,” *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 92, no. 1, pp. 4–8, Sep. 2006, doi: 10.1016/J.PBIOMOLBIO.2006.02.016.

[7] F. Baeke, T. Takiishi, H. Korf, C. Gysemans, and C. Mathieu, “Vitamin D: modulator of the immune system,” *Curr. Opin. Pharmacol.*, vol. 10, no. 4, pp. 482–496, Aug. 2010, doi: 10.1016/J.COPH.2010.04.001.

[8] T. Dietrich, M. Nunn, B. Dawson-Hughes, and H. A. Bischoff-Ferrari, “Association between serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and gingival inflammation,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 82, no. 3, pp. 575–580, Sep. 2005, doi: 10.1093/AJCN/82.3.575.

[9] M. N. Garcia *et al.*, “One-Year Effects of Vitamin D and Calcium Supplementation on Chronic Periodontitis,” *J. Periodontol.*, vol. 82, no. 1, pp.

25–32, Jan. 2011, doi: 10.1902/JOP.2010.100207.

[10] A. Gong *et al.*, “1,25-dihydroxyvitamin D deficiency accelerates alveolar bone loss independent of aging and extracellular calcium and phosphorus,” *J. Periodontol.*, vol. 89, no. 8, pp. 983–994, Aug. 2018, doi: 10.1002/JPER.17-0542.

[11] B. J. W. Hennig, J. M. Parkhill, L. L. C. Chapple, P. A. Heasman, and J. J. Taylor, “Association of a Vitamin D Receptor Gene Polymorphism With Localized Early-Onset Periodontal Diseases,” *J. Periodontol.*, vol. 70, no. 9, pp. 1032–1038, Sep. 1999, doi: 10.1902/JOP.1999.70.9.1032.

[12] K. Inagaki, E. A. Krall, J. C. Fleet, and R. I. Garcia, “Vitamin D Receptor Alleles, Periodontal Disease Progression, and Tooth Loss in the VA Dental Longitudinal Study,” *J. Periodontol.*, vol. 74, no. 2, pp. 161–167, Feb. 2003, doi: 10.1902/JOP.2003.74.2.161.

[13] H. Yoshie, T. Kobayashi, H. T.-P. 2000, and undefined 2007, “The role of genetic polymorphisms in periodontitis,” *Wiley Online Libr.*, vol. 43, no. 1, pp. 102–132, Feb. 2007, doi: 10.1111/j.1600-0757.2006.00164.x.

[14] C. Franco, H. R. Patricia, S. Timo, B. Claudia, and H. Marcela, “Matrix Metalloproteinases as Regulators of Periodontal Inflammation,” *Int. J. Mol. Sci. 2017, Vol. 18, Page 440*, vol. 18, no. 2, p. 440, Feb. 2017, doi: 10.3390/IJMS18020440.

[15] D. Kass, M. Rabinovitch, R. Visse, and H. Nagase, “Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases,” *Circ. Res.*, vol. 92, no. 8, pp. 827–839, May 2003, doi: 10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D.

[16] V. Lemaître and J. D’Armiento, “Matrix metalloproteinases in development and disease,” *Birth Defects Res. C. Embryo Today*, vol. 78, no. 1, pp. 1–10, Mar. 2006, doi: 10.1002/BDRC.20065.

[17] N. T. Carranza, *Clinical Periodontology 12*. 2015.

[18] S. Chakraborti, M. Mandal, S. Das, A. Mandal, and T. Chakraborti, “Regulation of matrix metalloproteinases. An overview,” *Mol. Cell. Biochem.*, vol. 253, no. 1–2, pp. 269–285, Nov. 2003, doi: 10.1023/A:1026028303196/METRICS.

[19] H. Nagaset and J. F. Woessner, “Matrix metalloproteinases,” *J. Biol. Chem.*, vol. 274, no. 31, pp. 21491–21494, Jul. 1999, doi: 10.1074/jbc.274.31.21491.

[20] M. Ram, Y. Sherer, and Y. Shoenfeld, “Matrix metalloproteinase-9 and

autoimmune diseases," *J. Clin. Immunol.*, vol. 26, no. 4, pp. 299–307, Jul. 2006, doi: 10.1007/S10875-006-9022-6/TABLES/3.

[21] H. Laronha and J. Caldeira, "Structure and Function of Human Matrix Metalloproteinases," *Cells 2020, Vol. 9, Page 1076*, vol. 9, no. 5, p. 1076, Apr. 2020, doi: 10.3390/CELLS9051076.

[22] U. K. Gursoy *et al.*, "Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 40, no. 1, pp. 18–25, Jan. 2013, doi: 10.1111/JCPE.12020.

[23] J. M. Leppilahti *et al.*, "Matrix metalloproteinases and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid provide site-specific diagnostic value for chronic periodontitis," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 41, no. 4, pp. 348–356, Apr. 2014, doi: 10.1111/JCPE.12223.

[24] C. A. Ramseier *et al.*, "Identification of Pathogen and Host-Response Markers Correlated With Periodontal Disease," *J. Periodontol.*, vol. 80, no. 3, pp. 436–446, Mar. 2009, doi: 10.1902/JOP.2009.080480.

[25] I. B. Lamster, "Evaluation of Components of Gingival Crevicular Fluid as Diagnostic Tests," *Ann. Periodontol.*, vol. 2, no. 1, pp. 123–137, Mar. 1997, doi: 10.1902/ANNALS.1997.2.1.123.

[26] B. Krasse, "Serendipity or Luck: Stumbling on Gingival Crevicular Fluid," *http://dx.doi.org/10.1177/00220345960750090201*, vol. 75, no. 9, pp. 1627–1630, Sep. 1996, doi: 10.1177/00220345960750090201.

[27] K. Subbarao, … G. N.-J. of pharmacy, and undefined 2019, "Gingival crevicular fluid: an overview," *ncbi.nlm.nih.gov*, Accessed: Apr. 06, 2023. [Online]. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6555362/.

[28] P. I. Eke, B. A. Dye, L. Wei, G. O. Thornton-Evans, and R. J. Genco, "Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010," *journals.sagepub.com*, vol. 91, no. 10, pp. 914–920, Oct. 2012, doi: 10.1177/0022034512457373.

[29] A. Dumitrescu and J. Kobayashi, "Genetic variants in periodontal health and disease," 2010, Accessed: Apr. 11, 2023. [Online]. Available: https://link.springer.com/978-3-642-00679-1.

[30] I. L. C. Chapple *et al.*, "Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the

2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions," *J. Periodontol.*, vol. 89, pp. S74–S84, Jun. 2018, doi: 10.1002/JPER.17-0719.

[31] K. T. Lindhe J, Lang N, *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 2008.

[32] A. Mariotti, "Dental plaque-induced gingival diseases.," *Ann. Periodontol.*, vol. 4, no. 1, pp. 7–19, 1999, doi: 10.1902/ANNALS.1999.4.1.7.

[33] P. N. Papapanou *et al.*, "Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions," *J Periodontol*, vol. 89, no. 1, p. 1, 2018, doi: 10.1002/JPER.17-0721.

[34] D. T. Felson *et al.*, "American college of rheumatology preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis," *Arthritis Rheum.*, vol. 38, no. 6, pp. 727–735, 1995, doi: 10.1002/ART.1780380602.

[35] P. P.-C. D. and oral epidemiology and undefined 2003, "The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century–the approach of the WHO Global Oral Health Programme," *Wiley Online Libr.*, vol. 31, no. SUPPL. 1, pp. 3–24, Dec. 2003, doi: 10.1046/j..2003.com122.x.

[36] Y. Tokoro, Y. Matsuki, T. Yamamoto, T. Suzuki, and K. Hara, "Relevance of local Th2- type cytokine mRNA expression in immunocompetent infiltrates in inflamed gingival tissue to periodontal diseases," *Wiley Online Libr.*, vol. 107, no. 1, pp. 166–174, 1997, doi: 10.1046/j.1365-2249.1997.d01-880.x.

[37] Z. P. Keles, G. C. Keles, B. Avci, B. O. Cetinkaya, and G. Emingil, "Analysis of YKL-40 Acute-Phase Protein and Interleukin-6 Levels in Periodontal Disease," *J. Periodontol.*, vol. 85, no. 9, pp. 1240–1246, Sep. 2014, doi: 10.1902/JOP.2014.130631.

[38] A. Dentino, S. Lee, J. Mailhot, and A. F. Hefti, "Principles of periodontology," *Periodontol. 2000*, vol. 61, no. 1, pp. 16–53, Feb. 2013, doi: 10.1111/J.1600-0757.2011.00397.X.

[39] D. F. Kinane, "Causation and pathogenesis of periodontal disease," *Periodontol. 2000*, vol. 25, no. 1, pp. 8–20, Feb. 2001, doi: 10.1034/J.1600-0757.2001.22250102.X.

[40] S. S. Socransky and A. D. Haffajee, "Evidence of bacterial etiology: a historical perspective," *Periodontol. 2000*, vol. 5, no. 1, pp. 7–25, Jun. 1994, doi:

10.1111/J.1600-0757.1994.TB00016.X.

[41] R. C. Page and K. S. Kornman, “The pathogenesis of human periodontitis: an introduction,” *Periodontol. 2000*, vol. 14, no. 1, pp. 9–11, Jun. 1997, doi: 10.1111/J.1600-0757.1997.TB00189.X.

[42] A. A. Bom- van Noorloos, C. A. Schipper, T. J. M. VAN Steenbergen, J. de Graaff, and E. H. Burger, “Bacteroides gingivalis activates mouse spleen cells to produce a factor that stimulates resorptive activity of osteoclasts in vitro,” *J. Periodontal Res.*, vol. 21, no. 4, pp. 440–444, Jul. 1986, doi: 10.1111/J.1600-0765.1986.TB01478.X.

[43] A. Amano, “Host–parasite interactions in periodontitis: microbial pathogenicity and innate immunity,” *Periodontol. 2000*, vol. 54, no. 1, pp. 9–14, Oct. 2010, doi: 10.1111/J.1600-0757.2010.00376.X.

[44] D. R. Dixon, B. W. Bainbridge, and R. P. Darveau, “Modulation of the innate immune response within the periodontium,” *Periodontol. 2000*, vol. 35, no. 1, pp. 53–74, Jun. 2004, doi: 10.1111/J.0906-6713.2004.003556.X.

[45] G. P. Garlet, “Critical reviews in oral biology & medicine: Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: A re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints,” *J. Dent. Res.*, vol. 89, no. 12, pp. 1349–1363, Dec. 2010, doi: 10.1177/0022034510376402/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_0022034510376402-FIG2.JPEG.

[46] G. D. Slade, S. Offenbacher, J. D. Beck, G. Heiss, and J. S. Pankow, “Acute-phase inflammatory response to periodontal disease in the US population,” *J. Dent. Res.*, vol. 79, no. 1, pp. 49–57, 2000, doi: 10.1177/00220345000790010701.

[47] E. G., *Periodontal Hastalıkların Patogenezi*. Hacettepe Üniv. Yayınları, 2010.

[48] T. A. Springer, “Traffic Signals for Lymphocyte Recirculation and Leukocyte Emigration: The Multistep Paradigm Review,” *Cell*, vol. 76, pp. 301–314, 1994.

[49] A. Kantarci, K. Oyaizu, and T. E. Van Dyke, “Neutrophil-Mediated Tissue Injury in Periodontal Disease Pathogenesis: Findings from Localized Aggressive Periodontitis,” *J. Periodontol.*, vol. 74, no. 1, pp. 66–75, Jan. 2003, doi: 10.1902/JOP.2003.74.1.66.

[50] G. Greenstein, “NONSURGICAL PERIODONTAL THERAPY IN 2000: A

LITERATURE REVIEW," *J. Am. Dent. Assoc.*, vol. 131, no. 11, pp. 1580–1592, Nov. 2000, doi: 10.14219/JADA.ARCHIVE.2000.0087.

[51] R. C. Page, "The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm," *Ann. Periodontol.*, vol. 3, no. 1, pp. 108–120, 1998, doi: 10.1902/ANNALS.1998.3.1.108.

[52] K. Yamazaki, H. Yoshie, and G. J. Seymour, "T cell regulation of the immune response to infection in periodontal diseases," *Histol. Histopathol.*, vol. 18, no. 3, pp. 889–896, Jul. 2003, doi: 10.14670/HH-18.889.

[53] M. F. Holick, "Vitamin D: A millenium perspective," *J. Cell. Biochem.*, vol. 88, no. 2, pp. 296–307, Feb. 2003, doi: 10.1002/JCB.10338.

[54] M. F. Holick, "The Use and Interpretation of Assays for Vitamin D and its Metabolites," *J. Nutr.*, vol. 120, no. suppl_11, pp. 1464–1469, Nov. 1990, doi: 10.1093/JN/120.SUPPL_11.1464.

[55] A. W. Norman, *Vitamin D The Calcium Homeostatic Steroid Hormone*. 1979.

[56] M. F. Holick, "Vitamin D Status: Measurement, Interpretation, and Clinical Application," *Ann. Epidemiol.*, vol. 19, no. 2, pp. 73–78, Feb. 2009, doi: 10.1016/J.ANNEPIDEM.2007.12.001.

[57] A. R. Baker *et al.*, "Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor.," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 85, no. 10, pp. 3294–3298, May 1988, doi: 10.1073/PNAS.85.10.3294.

[58] P. F. Brumbaugh, D. H. Haussler, R. Bressler, and M. R. Haussler, "Radioreceptor Assay for 1α,25-Dihydroxyvitamin D3," *Science (80-.).*, vol. 183, no. 4129, pp. 1089–1091, Mar. 1974, doi: 10.1126/SCIENCE.183.4129.1089.

[59] M. R. Haussler *et al.*, "The nuclear vitamin D receptor: Biological and molecular regulatory properties revealed," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 13, no. 3, pp. 325–349, 1998.

[60] M. S. Kim, R. Fujiki, H. Kitagawa, and S. Kato, "RETRACTED: 1α,25(OH)2D3-induced DNA methylation suppresses the human CYP27B1 gene," *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 265–266, no. SUPPL., pp. 168–173, Feb. 2007, doi: 10.1016/J.MCE.2006.12.014.

[61] M.-S. Kim *et al.*, ",25(OH) 2 D 3-Induced Transrepression by Vitamin D Receptor through E-Box-Type Elements in the Human Parathyroid Hormone

Gene Promoter," 2007, doi: 10.1210/me.2006-0231.

[62] M. B. Demay, J. M. Gerardi, H. F. Delucat, and H. M. Kronenberg, "DNA sequences in the rat osteocalcin gene that bind the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor and confer responsiveness to 1,25-dihydroxyvitamin D3 (steroid receptor/osteoblast)," vol. 87, pp. 369–373, 1990, Accessed: Jan. 02, 2023. [Online]. Available: https://www.pnas.org.

[63] C. Zierold, H. M. Darwish, and H. F. DeLuca, "Two vitamin D response elements function in the rat 1,25-dihydroxyvitamin D 24-hydroxylase promoter," *J. Biol. Chem.*, vol. 270, no. 4, pp. 1675–1678, 1995, doi: 10.1074/JBC.270.4.1675.

[64] C. Zierold, H. M. Darwish, and H. F. Deluca, "Identification of a vitamin D-response element in the rat calcidiol (25-hydroxyvitamin D3) 24-hydroxylase gene (caUm/bone/hydroxylwse/sterold receptor)," vol. 91, pp. 900–902, 1994, Accessed: Jan. 02, 2023. [Online]. Available: https://www.pnas.org.

[65] H. M. Darwish and H. F. DeLuca, "Recent Advances in the Molecular Biology of Vitamin D Action," *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, vol. 53, pp. 321–344, Jan. 1996, doi: 10.1016/S0079-6603(08)60149-X.

[66] H. F. DeLuca, "Overview of general physiologic features and functions of vitamin D," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 80, no. 6, pp. 1689S-1696S, Dec. 2004, doi: 10.1093/AJCN/80.6.1689S.

[67] Y. Wang, J. Zhu, and H. F. DeLuca, "Where is the vitamin D receptor?," *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 523, no. 1, pp. 123–133, Jul. 2012, doi: 10.1016/J.ABB.2012.04.001.

[68] J. M. Valdivielso and E. Fernandez, "Vitamin D receptor polymorphisms and diseases," *Clin. Chim. Acta*, vol. 371, no. 1–2, pp. 1–12, Sep. 2006, doi: 10.1016/J.CCA.2006.02.016.

[69] H. Meng, L. Xu, Q. Li, J. Han, and Y. Zhao, "Determinants of host susceptibility in aggressive periodontitis," *Periodontol. 2000*, vol. 43, no. 1, pp. 133–159, Feb. 2007, doi: 10.1111/J.1600-0757.2006.00204.X.

[70] P. Ranganathan, "Genetics of bone loss in rheumatoid arthritis-role of vitamin D receptor polymorphisms," doi: 10.1093/rheumatology/ken473.

[71] P. M. Brett *et al.*, "Functional Gene Polymorphisms in Aggressive and Chronic Periodontitis," *http://dx.doi.org/10.1177/154405910508401211*, vol. 84, no. 12,

pp. 1149–1153, Dec. 2016, doi: 10.1177/154405910508401211.

[72] Y. Tachi *et al.*, “Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with chronic periodontitis,” *Life Sci.*, vol. 73, no. 26, pp. 3313–3321, Nov. 2003, doi: 10.1016/J.LFS.2003.03.001.

[73] L. Nibali *et al.*, “Vitamin D receptor polymorphism (-1056 Taq-I) interacts with smoking for the presence and progression of periodontitis,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 35, no. 7, pp. 561–567, Jul. 2008, doi: 10.1111/J.1600-051X.2008.01233.X.

[74] M. F. Holick, “High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health,” *Mayo Clin. Proc.*, vol. 81, no. 3, pp. 353–373, Mar. 2006, doi: 10.4065/81.3.353.

[75] E. M. Brown, M. Pollak, D. Riccardi, and S. C. Hebert, “IMephroloqy Dialysis Transplantation Cloning and characterization of an extracellular Ca 2+-sensing receptor from parathyroid and kidney: new insights into the physiology and pathophysiology of calcium metabolism,” *Nephrol Dial Transpl.*, vol. 9, pp. 1703–1706, 1994, Accessed: Jan. 03, 2023. [Online]. Available: https://academic.oup.com/ndt/article-abstract/9/12/1703/1834194.

[76] L. B. A. H. S. M. P. M. B.-H. M. H. S. A. J. E. S. A. R. B.-J. R. H.-N. A. HASHEMIPOUR Sima, “The status of biochemical parameters in varying degrees of vitamin D deficiency,” *J. Bone Miner. Metab.*, vol. 24, no. 3, pp. 213–218, May 2006, Accessed: Jan. 03, 2023. [Online]. Available: https://cir.nii.ac.jp/crid/1571980075314330752.

[77] N. Heureux, “Vitamin D Testing—Where Are We and What Is on the Horizon?,” *Adv. Clin. Chem.*, vol. 78, pp. 59–101, Jan. 2017, doi: 10.1016/BS.ACC.2016.07.002.

[78] D. M. Provvedini, C. D. Tsoukas, L. J. Deftos, and S. C. Manolagas, “1,25-Dihydroxyvitamin D3 Receptors in Human Leukocytes,” *Science (80-.).*, vol. 221, no. 4616, pp. 1181–1183, 1983, doi: 10.1126/SCIENCE.6310748.

[79] A. A. Ginde, J. M. Mansbach, and C. A. Camargo, “Association Between Serum 25-Hydroxyvitamin D Level and Upper Respiratory Tract Infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey,” *Arch. Intern. Med.*, vol. 169, no. 4, pp. 384–390, Feb. 2009, doi: 10.1001/ARCHINTERNMED.2008.560.

[80] I. Laaksi *et al.*, “An association of serum vitamin D concentrations < 40 nmol/L with acute respiratory tract infection in young Finnish men,” *Am. J. Clin. Nutr.*,

vol. 86, no. 3, pp. 714–717, Sep. 2007, doi: 10.1093/AJCN/86.3.714.

[81] J. J. Cannell *et al.*, “Epidemic influenza and vitamin D,” *Epidemiol. Infect.*, vol. 134, no. 6, pp. 1129–1140, Dec. 2006, doi: 10.1017/S0950268806007175.

[82] L. M. Bodnar, M. A. Krohn, and H. N. Simhan, “Maternal Vitamin D Deficiency Is Associated with Bacterial Vaginosis in the First Trimester of Pregnancy,” *J. Nutr.*, vol. 139, no. 6, pp. 1157–1161, Jun. 2009, doi: 10.3945/JN.108.103168.

[83] E. Villamor, “A Potential Role for Vitamin D on Hiv Infection?,” *Nutr. Rev.*, vol. 64, no. 5, pp. 226–233, May 2006, doi: 10.1111/J.1753-4887.2006.TB00205.X.

[84] “7.--On the Use and Administration of Cod-Liver Oil in Pulmonary Consumption. - ProQuest.” https://www.proquest.com/openview/47bc889faccc27cc8bf097fe9da261a5/1?cbl=35903&pq-origsite=gscholar&parentSessionId=ByMneu%2Bf88FiqZzTxJJt42D7UZ2sU4Km%2FC3yVFES7VQ%3D (accessed Jan. 12, 2023).

[85] L. Adorini, “Intervention in autoimmunity: The potential of vitamin D receptor agonists,” *Cell. Immunol.*, vol. 233, no. 2, pp. 115–124, Feb. 2005, doi: 10.1016/J.CELLIMM.2005.04.013.

[86] E. Zold *et al.*, “Vitamin D deficiency in undifferentiated connective tissue disease,” *Arthritis Res. Ther.*, vol. 10, no. 5, pp. 1–8, Oct. 2008, doi: 10.1186/AR2533/TABLES/3.

[87] P. Lips, “Vitamin D Deficiency and Secondary Hyperparathyroidism inthe Elderly: Consequences for Bone Loss and Fractures andTherapeutic Implications,” *Endocr. Rev.*, vol. 22, no. 4, pp. 477–501, Aug. 2001, doi: 10.1210/EDRV.22.4.0437.

[88] P. Lips and N. M. Van Schoor, “The effect of vitamin D on bone and osteoporosis,” *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 25, no. 4, pp. 585–591, Aug. 2011, doi: 10.1016/J.BEEM.2011.05.002.

[89] A. M. Parfitt, D. S. Rao, J. Stanciu, A. R. Villanueva, M. Kleerekoper, and B. Frame, “Irreversible bone loss in osteomalacia. Comparison of radial photon absorptiometry with iliac bone histomorphometry during treatment.,” *J. Clin. Invest.*, vol. 76, no. 6, pp. 2403–2412, Dec. 1985, doi: 10.1172/JCI112253.

[90] M. F. Holick, “Resurrection of vitamin D deficiency and rickets,” *J. Clin. Invest.*, vol. 116, no. 8, pp. 2062–2072, Aug. 2006, doi: 10.1172/JCI29449.

[91] M. F. Holick, “Vitamin D Deficiency,” *https://doi.org/10.1056/NEJMra070553*, vol. 357, no. 3, pp. 266–281, Jul. 2007, doi: 10.1056/NEJMRA070553.

[92] S. Bakhtiyarova, O. Lesnyak, N. Kyznesova, M. A. Blankenstein, and P. Lips, “Vitamin D status among patients with hip fracture and elderly control subjects in Yekaterinburg, Russia,” *Osteoporos. Int.*, vol. 17, no. 3, pp. 441–446, Mar. 2006, doi: 10.1007/S00198-005-0006-9/FIGURES/4.

[93] E. R. Larsen, L. Mosekilde, and A. Foldspang, “Vitamin D and calcium supplementation prevents osteoporotic fractures in elderly community dwelling residents: A pragmatic population-based 3-year intervention study,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 19, no. 3, pp. 370–378, Mar. 2004, doi: 10.1359/JBMR.0301240.

[94] Y. Sato, J. Iwamoto, and Y. Honda, “Vitamin D deficiency-induced vertebral fractures may cause stooped posture in Parkinson disease,” *Am. J. Phys. Med. Rehabil.*, vol. 90, no. 4, pp. 281–286, Apr. 2011, doi: 10.1097/PHM.0B013E3182063A42.

[95] S. P. G. Bours *et al.*, “Contributors to Secondary Osteoporosis and Metabolic Bone Diseases in Patients Presenting with a Clinical Fracture,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 96, no. 5, pp. 1360–1367, May 2011, doi: 10.1210/JC.2010-2135.

[96] C. Tannenbaum *et al.*, “Yield of Laboratory Testing to Identify Secondary Contributors to Osteoporosis in Otherwise Healthy Women,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 87, no. 10, pp. 4431–4437, Oct. 2002, doi: 10.1210/JC.2002-020275.

[97] S. S. Yeap, A. Z. Othman, A. A. Zain, and S. P. Chan, “Vitamin D levels: its relationship to bone mineral density response and disease activity in premenopausal Malaysian systemic lupus erythematosus patients on corticosteroids,” *Int. J. Rheum. Dis.*, vol. 15, no. 1, pp. 17–24, Feb. 2012, doi: 10.1111/J.1756-185X.2011.01653.X.

[98] S. Adami *et al.*, “Vitamin D status and response to treatment in post-menopausal osteoporosis,” *Osteoporos. Int. 2008 202*, vol. 20, no. 2, pp. 239–244, Jun. 2008, doi: 10.1007/S00198-008-0650-Y.

[99] A. Deane, L. Constancio, I. Fogelman, and G. Hampson, “The impact of vitamin D status on changes in bone mineral density during treatment with bisphosphonates and after discontinuation following long-term use in post-

menopausal osteoporosis," *BMC Musculoskelet. Disord.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–8, Jan. 2007, doi: 10.1186/1471-2474-8-3/TABLES/2.

[100] L. Nonn, L. Peng, D. Feldman, and D. M. Peehl, "Inhibition of p38 by Vitamin D Reduces Interleukin-6 Production in Normal Prostate Cells via Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase 5: Implications for Prostate Cancer Prevention by Vitamin D," *Cancer Res.*, vol. 66, no. 8, pp. 4516–4524, Apr. 2006, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3796.

[101] M. Cozzolino, Y. Lu, J. Finch, E. Slatopolsky, and A. S. Dusso, "p21WAF1 and TGF-α mediate parathyroid growth arrest by vitamin D and high calcium," *Kidney Int.*, vol. 60, no. 6, pp. 2109–2117, Dec. 2001, doi: 10.1046/J.1523-1755.2001.00042.X.

[102] A. Gong *et al.*, "Role of 1,25-dihydroxyvitamin D in alleviating alveolar bone loss and gingival inflammation in ligature-induced periodontitis," *Am. J. Transl. Res.*, vol. 14, no. 5, p. 3079, 2022, Accessed: Mar. 06, 2023. [Online]. Available: /pmc/articles/PMC9185029/.

[103] K. Liu, H. Meng, and J. Hou, "Activity of 25-Hydroxylase in Human Gingival Fibroblasts and Periodontal Ligament Cells," *PLoS One*, vol. 7, no. 12, p. e52053, Dec. 2012, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0052053.

[104] Y. Amano, K. Komiyama, and M. Makishima, "Vitamin D and periodontal disease," *J. Oral Sci.*, vol. 51, no. 1, pp. 11–20, Mar. 2009, doi: 10.2334/JOSNUSD.51.11.

[105] C. Oh, H. J. Kim, and H. M. Kim, "Vitamin D maintains E-cadherin intercellular junctions by downregulating MMP-9 production in human gingival keratinocytes treated by TNF-α," *J. Periodontal Implant Sci.*, vol. 49, no. 5, pp. 270–286, Oct. 2019, doi: 10.5051/JPIS.2019.49.5.270.

[106] G. K. Schwalfenberg, "A review of the critical role of vitamin D in the functioning of the immune system and the clinical implications of vitamin D deficiency," *Mol. Nutr. Food Res.*, vol. 55, no. 1, pp. 96–108, Jan. 2011, doi: 10.1002/MNFR.201000174.

[107] U. Van Der Velden, D. Kuzmanova, and I. L. C. Chapple, "Micronutritional approaches to periodontal therapy," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 38, no. SUPPL. 11, pp. 142–158, Mar. 2011, doi: 10.1111/J.1600-051X.2010.01663.X.

[108] R. F. Chun, J. S. Adams, and M. Hewison, "Back to the future: a new look at

‘old’ vitamin D,” *J. Endocrinol.*, vol. 198, no. 2, p. 261, Aug. 2008, doi: 10.1677/JOE-08-0170.

[109] D. Grenier, M. P. Morin, J. Fournier-Larente, and H. Chen, “Vitamin D inhibits the growth of and virulence factor gene expression by Porphyromonas gingivalis and blocks activation of the nuclear factor kappa B transcription factor in monocytes,” *J. Periodontal Res.*, vol. 51, no. 3, pp. 359–365, Jun. 2016, doi: 10.1111/JRE.12315.

[110] X. Hu *et al.*, “Calcitriol decreases live Porphyromonas gingivalis internalized into epithelial cells and monocytes by promoting autophagy,” *J. Periodontol.*, vol. 91, no. 7, pp. 956–966, Jul. 2020, doi: 10.1002/JPER.19-0510.

[111] T.-T. Wang *et al.*, “Cutting Edge: 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Is a Direct Inducer of Antimicrobial Peptide Gene Expression,” *J. Immunol.*, vol. 173, no. 5, pp. 2909–2912, Sep. 2004, doi: 10.4049/JIMMUNOL.173.5.2909.

[112] P. T. Liu *et al.*, “Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response,” *Science (80-.).*, vol. 311, no. 5768, pp. 1770–1773, Mar. 2006, doi: 10.1126/SCIENCE.1123933/SUPPL_FILE/LIUP.SOM.PDF.

[113] Q. Wan, L. Li, S. Yang, … Z. L.-G. testing and, and undefined 2019, “Role of Vitamin D receptor gene polymorphisms on the susceptibility to periodontitis: A meta-analysis of a controversial issue,” *liebertpub.com*, vol. 23, no. 9, pp. 618–633, Sep. 2019, doi: 10.1089/gtmb.2019.0021.

[114] M. F. Holick, “Vitamin D and sunlight: Strategies for cancer prevention and other health benefits,” *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, vol. 3, no. 5, pp. 1548–1554, Sep. 2008, doi: 10.2215/CJN.01350308.

[115] “Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is i... : Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity.” https://journals.lww.com/co-endocrinology/fulltext/2002/02000/vitamin_d__the_underappreciated_d_lightful_hormone.11.aspx (accessed Mar. 13, 2023).

[116] A. Hossein-Nezhad and M. F. Holick, “Vitamin D for Health: A Global Perspective,” *Mayo Clin. Proc.*, vol. 88, no. 7, pp. 720–755, Jul. 2013, doi: 10.1016/J.MAYOCP.2013.05.011.

[117] T. Kulie, A. Groff, J. Redmer, J. Hounshell, and S. Schrager, “Vitamin D: An Evidence-Based Review,” *J. Am. Board Fam. Med.*, vol. 22, no. 6, pp. 698–706, Nov. 2009, doi: 10.3122/JABFM.2009.06.090037.

[118] P. Bordelon, M. Ghetu, R. L.-A. family physician, and undefined 2009, “Recognition and management of vitamin D deficiency,” *aafp.org*, Accessed: Mar. 13, 2023. [Online]. Available: https://www.aafp.org/afp/2009/1015/p841.

[119] “Hypponen: Intake of vitamin D and risk of type 1... - Google Akademik.” https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes%3A a birth-cohort study&author=E Hypponen&author=E Laara&author=M-R Jarvelin&author=SM Virtanen&publication_year=2001&journal=Lancet&volume=358&pages=1500-3 (accessed Mar. 13, 2023).

[120] L. A. Merlino, J. Curtis, T. R. Mikuls, J. R. Cerhan, L. A. Criswell, and K. G. Saag, “Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: Results from the Iowa Women’s Health Study,” *Arthritis Rheum.*, vol. 50, no. 1, pp. 72–77, Jan. 2004, doi: 10.1002/ART.11434.

[121] M. F. Holick and T. C. Chen, “Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 87, no. 4, pp. 1080S-1086S, Apr. 2008, doi: 10.1093/AJCN/87.4.1080S.

[122] C. T. Sempos *et al.*, “Vitamin D assays and the definition of hypovitaminosis D: results from the First International Conference on Controversies in Vitamin D,” *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 84, no. 10, pp. 2194–2207, Oct. 2018, doi: 10.1111/BCP.13652.

[123] A. Giustina *et al.*, “Controversies in Vitamin D: Summary Statement From an International Conference,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 104, no. 2, pp. 234–240, Feb. 2019, doi: 10.1210/JC.2018-01414.

[124] P. Lips *et al.*, “Current vitamin D status in European and Middle East countries and strategies to prevent vitamin D deficiency: a position statement of the European Calcified Tissue Society,” *Eur. J. Endocrinol.*, vol. 180, no. 4, pp. P23–P54, Apr. 2019, doi: 10.1530/EJE-18-0736.

[125] R. Bouillon and G. Carmeliet, “Vitamin D insufficiency: Definition, diagnosis and management,” *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 32, no. 5, pp. 669–684, Oct. 2018, doi: 10.1016/J.BEEM.2018.09.014.

[126] B. Dawson-Hughes, “Vitamin D deficiency in adults: Definition, clinical manifestations, and treatment - UpToDate,” 2019. https://www.uptodate.com/contents/vitamin-d-deficiency-in-adults-definition-

clinical-manifestations-and-treatment?search=colecalciferol vs ergocalciferol&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1%0Ahttps://www.uptodate.com (accessed Mar. 15, 2023).

[127] N. Anand, S. Chandrasekaran, and N. Rajput, "Vitamin D and periodontal health: Current concepts," *J. Indian Soc. Periodontol.*, vol. 17, no. 3, pp. 302–308, May 2013, doi: 10.4103/0972-124X.115645.

[128] M. F. Holick, "The D-Lightful Vitamin D for Child Health," *J. Parenter. Enter. Nutr.*, vol. 36, no. 1 SUPPL., pp. 9S-19S, Jan. 2012, doi: 10.1177/0148607111430189.

[129] E. W. Holmes, J. Garbincius, and K. M. McKenna, "Analytical Variability Among Methods for the Measurement of 25-Hydroxyvitamin DStill Adding to the Noise," *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 140, no. 4, pp. 550–560, Oct. 2013, doi: 10.1309/AJCPU2SKW1TFKSWY.

[130] C. T. Sempos, H. W. Vesper, K. W. Phinney, L. M. Thienpont, and P. M. Coates, "Vitamin D status as an international issue: National surveys and the problem of standardization," *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, vol. 72, no. SUPPL. 243, pp. 32–40, Apr. 2012, doi: 10.3109/00365513.2012.681935/SUPPL_FILE/ICLB_A_681935_SM0001.PDF.

[131] S. S. C. Tai, M. Bedner, and K. W. Phinney, "Development of a candidate reference measurement procedure for the determination of 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D 2 in human serum using isotope-dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry," *Anal. Chem.*, vol. 82, no. 5, pp. 1942–1948, Mar. 2010, doi: 10.1021/AC9026862/ASSET/IMAGES/LARGE/AC-2009-026862_0003.JPEG.

[132] "OSTEOPOROZ ve OSTEOPOROZ ve METABOLİK KEMİK METABOLİK KEMİK HASTALIKLARI HASTALIKLARI TANI ve TEDAVİ TANI ve TEDAVİ KILAVUZU KILAVUZU OSTEOPOROZ VE DİĞER METABOLİK KEMİK HASTALIKLARI ÇALIŞMA GRUBU Türkiye Türkiye Endokrinoloji ve Endokrinoloji ve Metabolizma Metabolizma Derneği Derneği," 2022, Accessed: Mar. 22, 2023. [Online]. Available: www.bayt.com.tr.

[133] V. Ganji, X. Zhang, and V. Tangpricha, "Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations and Prevalence Estimates of Hypovitaminosis D in the U.S. Population Based on Assay-Adjusted Data," *J. Nutr.*, vol. 142, no. 3, pp. 498–

507, Mar. 2012, doi: 10.3945/JN.111.151977.

[134] H. A. Bischoff-Ferrari, E. Giovannucci, W. C. Willett, T. Dietrich, and B. Dawson-Hughes, “Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 84, no. 1, pp. 18–28, Jun. 2006, doi: 10.1093/AJCN/84.1.18.

[135] M. F. Luxwolda, R. S. Kuipers, I. P. Kema, D. A. Janneke Dijck-Brouwer, and F. A. J. Muskiet, “Traditionally living populations in East Africa have a mean serum 25-hydroxyvitamin D concentration of 115 nmol/l,” *Br. J. Nutr.*, vol. 108, no. 9, pp. 1557–1561, Nov. 2012, doi: 10.1017/S0007114511007161.

[136] T. L. Clemens, S. L. Henderson, J. S. Adams, and M. F. Holick, “INCREASED SKIN PIGMENT REDUCES THE CAPACITY OF SKIN TO SYNTHESISE VITAMIN D3,” *Lancet*, vol. 319, no. 8263, pp. 74–76, Jan. 1982, doi: 10.1016/S0140-6736(82)90214-8.

[137] K. P. Schlingmann *et al.*, “ Mutations in CYP24A1 and Idiopathic Infantile Hypercalcemia ,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 365, no. 5, pp. 410–421, Aug. 2011, doi: 10.1056/NEJMOA1103864/SUPPL_FILE/NEJMOA1103864_DISCLOSURES.PDF.

[138] G. Van Den Berg, M. Van Eijsden, T. G. M. Vrijkotte, and R. J. B. J. Gemke, “Suboptimal maternal vitamin D status and low education level as determinants of small-for-gestational-age birth weight,” *Eur. J. Nutr.*, vol. 52, no. 1, pp. 273–279, Feb. 2013, doi: 10.1007/S00394-012-0327-3/TABLES/2.

[139] D. E. Godar, S. J. Pope, W. B. Grant, and M. F. Holick, “Solar UV doses of young Americans and vitamin D3 production,” *Environ. Health Perspect.*, vol. 120, no. 1, pp. 139–143, 2012, doi: 10.1289/EHP.1003195.

[140] J. MacLaughlin and M. F. Holick, “Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3.,” *J. Clin. Invest.*, vol. 76, no. 4, pp. 1536–1538, Oct. 1985, doi: 10.1172/JCI112134.

[141] B. Javorsky, N. Maybee, S. Padia, … A. D.-P., and undefined 2006, “Vitamin D deficiency in gastrointestinal disease,” *ficomputing.net*, Accessed: Mar. 27, 2023. [Online]. Available: https://www.ficomputing.net/pdf/March06/JavorskyArticle.pdf.

[142] T. A. Joiner, C. Foster, and T. Shope, “The Many Faces of Vitamin D Deficiency Rickets,” *Pediatr. Rev.*, vol. 21, no. 9, pp. 296–302, Sep. 2000, doi:

10.1542/PIR.21-9-296.

[143] E. I. Felner, J. F. Marks, and J. A. Germak, “A variation of vitamin D deficiency in children,” *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, vol. 14, no. 2, pp. 203–206, Feb. 2001, doi: 10.1515/JPEM.2001.14.2.203/MACHINEREADABLECITATION/RIS.

[144] S. Hatun *et al.*, “Subclinical Vitamin D Deficiency Is Increased in Adolescent Girls Who Wear Concealing Clothing,” *J. Nutr.*, vol. 135, no. 2, pp. 218–222, Feb. 2005, doi: 10.1093/JN/135.2.218.

[145] L. M. Ward, I. Gaboury, M. Ladhani, and S. Zlotkin, “Vitamin D–deficiency rickets among children in Canada,” *CMAJ*, vol. 177, no. 2, pp. 161–166, Jul. 2007, doi: 10.1503/CMAJ.061377.

[146] L. J. Dominguez, M. Farruggia, N. Veronese, and M. Barbagallo, “Vitamin D Sources, Metabolism, and Deficiency: Available Compounds and Guidelines for Its Treatment,” *Metab. 2021, Vol. 11, Page 255*, vol. 11, no. 4, p. 255, Apr. 2021, doi: 10.3390/METABO11040255.

[147] H. F. DeLuca, “Overview of general physiologic features and functions of vitamin D,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 80, no. 6, pp. 1689S-1696S, Dec. 2004, doi: 10.1093/AJCN/80.6.1689S.

[148] R. H. Herman and M. F. Holick, “Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 79, no. 3, pp. 362–371, Mar. 2004, doi: 10.1093/AJCN/79.3.362.

[149] J. G. Haddad, “Vitamin D — Solar Rays, the Milky Way, or Both?,” *http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199204303261808*, vol. 326, no. 18, pp. 1213–1215, Jan. 2010, doi: 10.1056/NEJM199204303261808.

[150] N. Binkley *et al.*, “Low Vitamin D Status despite Abundant Sun Exposure,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 92, no. 6, pp. 2130–2135, Jun. 2007, doi: 10.1210/JC.2006-2250.

[151] J. J. Neville, T. Palmieri, and A. R. Young, “Physical Determinants of Vitamin D Photosynthesis: A Review,” *JBMR Plus*, vol. 5, no. 1, p. e10460, Jan. 2021, doi: 10.1002/JBM4.10460.

[152] A. R. Webb, B. R. Decosta, and M. F. Holick, “Sunlight Regulates the Cutaneous Production of Vitamin D3 by Causing Its Photodegradation,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 68, no. 5, pp. 882–887, May 1989, doi: 10.1210/JCEM-68-5-882.

[153] B. Kütting and H. Drexler, “Evaluation of skin-protective means against acute and chronic effects of ultraviolet radiation from sunlight.,” *Curr. Probl. Dermatol.*, vol. 34, pp. 87–97, Jan. 2007, doi: 10.1159/000099606.

[154] G. R. Thompson, B. Lewis, and C. C. Booth, “Absorption of Vitamin D3-8H in Control Subjects and Patients with Intestinal Malabsorption *,” *J. Clin. Invest.*, vol. 45, no. 1, 1966.

[155] M. Maislos, J. Silver, and M. Fainaru, “Intestinal absorption of vitamin D sterols: Differential absorption into lymph and portal blood in the rat,” *Gastroenterology*, vol. 80, no. 6, pp. 1528–1534, Jun. 1981, doi: 10.1016/0016-5085(81)90268-7.

[156] M. Davies, E. B. Mawer, and E. L. Krawitt, “Comparative absorption of vitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D3 in intestinal disease.,” *Gut*, vol. 21, no. 4, pp. 287–292, Apr. 1980, doi: 10.1136/GUT.21.4.287.

[157] M. D. Sitrin and J. M. Bengoa, “Intestinal absorption of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in chronic cholestatic liver disease,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 46, no. 6, pp. 1011–1015, Dec. 1987, doi: 10.1093/AJCN/46.6.1011.

[158] J. E. Rundhaug, “Matrix metalloproteinases and angiogenesis,” *J. Cell. Mol. Med.*, vol. 9, no. 2, pp. 267–285, 2005, doi: 10.1111/J.1582-4934.2005.TB00355.X.

[159] L. M. Golub *et al.*, “Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 22, no. 2, pp. 100–109, 1995, doi: 10.1111/J.1600-051X.1995.TB00120.X.

[160] “Matrix metalloproteinases,” *Zinc Met. Heal. Dis.*, pp. 173–224, Jul. 1996, doi: 10.1201/9781482272765-16.

[161] I. Nishizuka *et al.*, “Matrilysin stimulates DNA synthesis of cultured vascular endothelial cells and induces angiogenesis in vivo,” *Cancer Lett.*, vol. 173, no. 2, pp. 175–182, Nov. 2001, doi: 10.1016/S0304-3835(01)00634-6.

[162] A. R. Folgueras, A. M. Pendás, L. M. Sánchez, and C. López-Otín, “Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies,” *Int. J. Dev. Biol.*, vol. 48, no. 5–6, pp. 411–424, 2004, doi: 10.1387/IJDB.041811AF.

[163] H. Palosaari, C. J. Pennington, M. Larmas, D. R. Edwards, L. Tjäderhane, and T. Salo, “Expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in mature human odontoblasts and pulp tissue,” *Eur. J. Oral*

Sci., vol. 111, no. 2, pp. 117–127, Apr. 2003, doi: 10.1034/J.1600-0722.2003.00026.X.

[164] N. Borkakoti, “Matrix metalloproteases: variations on a theme,” *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 70, no. 1, pp. 73–94, Jul. 1998, doi: 10.1016/S0079-6107(98)00003-0.

[165] I. Stamenkovic, “Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases,” *J. Pathol.*, vol. 200, no. 4, pp. 448–464, Jul. 2003, doi: 10.1002/PATH.1400.

[166] C. M. Overall and C. López-Otín, “Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era,” *Nat. Rev. Cancer 2002 29*, vol. 2, no. 9, pp. 657–672, 2002, doi: 10.1038/nrc884.

[167] A. John and G. Tuszynski, “The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis,” *Pathol. Oncol. Res.*, vol. 7, no. 1, pp. 14–23, 2001, doi: 10.1007/BF03032599.

[168] P. A. Andreasen, L. Kjøller, L. Christensen, and M. J. Duffy, “THE UROKINASE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR SYSTEM IN CANCER METASTASIS: A REVIEW,” *J. Cancer*, vol. 72, pp. 1–22, 1997, doi: 10.1002/(SICI)1097-0215(19970703)72:1.

[169] U. Benbow and C. E. Brinckerhoff, “The AP-1 site and MMP gene regulation: what is all the fuss about?,” *Matrix Biol.*, vol. 15, no. 8–9, pp. 519–526, 1997, doi: 10.1016/S0945-053X(97)90026-3.

[170] G. Tüter *et al.*, “Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 32, no. 9, pp. 1011–1015, Sep. 2005, doi: 10.1111/J.1600-051X.2005.00816.X.

[171] H. Nagase, “Activation mechanisms of matrix metalloproteinases.,” *Biol. Chem.*, vol. 378, no. 3–4, pp. 151–160, Mar. 1997, Accessed: Feb. 15, 2023. [Online]. Available: https://europepmc.org/article/med/9165065.

[172] M. E. Vianna, H. P. Horz, B. P. F. A. Gomes, and G. Conrads, “Microarrays complement culture methods for identification of bacteria in endodontic infections,” *Oral Microbiol. Immunol.*, vol. 20, no. 4, pp. 253–258, Aug. 2005, doi: 10.1111/J.1399-302X.2005.00221.X.

[173] J. Slots, “Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis

in periodontal disease: introduction," *Periodontol. 2000*, vol. 20, pp. 7–13, 1999, doi: 10.1111/J.1600-0757.1999.TB00155.X.

[174] Oktay G., "No Title," 1998.

[175] G. S. Butler *et al.*, "The TIMP2 membrane type 1 metalloproteinase 'receptor' regulates the concentration and efficient activation of progelatinase A. A kinetic study," *J. Biol. Chem.*, vol. 273, no. 2, pp. 871–880, Jan. 1998, doi: 10.1074/JBC.273.2.871.

[176] V. M. Kähäri and U. Saarialho-Kere, "Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion," *Ann. Med.*, vol. 31, no. 1, pp. 34–45, 1999, doi: 10.3109/07853899909019260.

[177] H. Birkedal-Hansen *et al.*, "Matrix metalloproteinases: a review," *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, vol. 4, no. 2, pp. 197–250, 1993, doi: 10.1177/10454411930040020401.

[178] M. A. Moses and R. Langer, "A metalloproteinase inhibitor as an inhibitor of neovascularization," *J. Cell. Biochem.*, vol. 47, no. 3, pp. 230–235, 1991, doi: 10.1002/jcb.240470308.

[179] B. Rai, S. Kharb, R. Jain, and S. C. Anand, "Biomarkers of periodontitis in oral fluids," *J. Oral Sci.*, vol. 50, no. 1, pp. 53–56, Mar. 2008, doi: 10.2334/JOSNUSD.50.53.

[180] R. Romanelli, S. Mancini, C. Laschinger, C. M. Overall, J. Sodek, and C. A. G. McCulloch, "Activation of neutrophil collagenase in periodontitis," *Infect. Immun.*, vol. 67, no. 5, pp. 2319–2326, 1999, doi: 10.1128/IAI.67.5.2319-2326.1999/ASSET/97D415C3-4696-439B-91E8-B50A2511BA39/ASSETS/GRAPHIC/II059157508C.JPEG.

[181] A. M. Marcaccini *et al.*, "Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 37, no. 2, pp. 180–190, Feb. 2010, doi: 10.1111/J.1600-051X.2009.01512.X.

[182] D. F. Kinane *et al.*, "Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance," *J. Periodontal Res.*, vol. 38, no. 4, pp. 400–404, Aug. 2003, doi: 10.1034/J.1600-0765.2003.00663.X.

[183] A. M. Marcaccini *et al.*, "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*, vol. 409, no. 1–2, pp. 117–122, Nov. 2009, doi: 10.1016/J.CCA.2009.09.012.

[184] M. Hernández Ríos *et al.*, "Proteolytic roles of matrix metalloproteinase (MMP)-13 during progression of chronic periodontitis: initial evidence for MMP-13/MMP-9 activation cascade," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 36, no. 12, pp. 1011–1017, Dec. 2009, doi: 10.1111/J.1600-051X.2009.01488.X.

[185] M. Hernández *et al.*, "Associations Between Matrix Metalloproteinase-8 and -14 and Myeloperoxidase in Gingival Crevicular Fluid From Subjects With Progressive Chronic Periodontitis: A Longitudinal Study," *J. Periodontol.*, vol. 81, no. 11, pp. 1644–1652, Nov. 2010, doi: 10.1902/JOP.2010.100196.

[186] U. K. Gursoy *et al.*, "Salivary MMP-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 37, no. 6, pp. 487–493, Jun. 2010, doi: 10.1111/J.1600-051X.2010.01563.X.

[187] J. B. Kim, M. H. Jung, J. Y. Cho, J. W. Park, J. Y. Suh, and J. M. Lee, "The influence of type 2 diabetes mellitus on the expression of inflammatory mediators and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 in human chronic periodontitis," *J. Periodontal Implant Sci.*, vol. 41, no. 3, pp. 109–116, Jun. 2011, doi: 10.5051/JPIS.2011.41.3.109.

[188] A. Oyarzún *et al.*, "Involvement of MT1-MMP and TIMP-2 in human periodontal disease," *Oral Dis.*, vol. 16, no. 4, pp. 388–395, May 2010, doi: 10.1111/J.1601-0825.2009.01651.X.

[189] J. M. Leppilahti *et al.*, "Oral rinse MMP-8 point-of-care immuno test identifies patients with strong periodontal inflammatory burden," *Oral Dis.*, vol. 17, no. 1, pp. 115–122, Jan. 2011, doi: 10.1111/J.1601-0825.2010.01716.X.

[190] J. D. Mott and Z. Werb, "Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases," *Curr. Opin. Cell Biol.*, vol. 16, no. 5, pp. 558–564, Oct. 2004, doi: 10.1016/J.CEB.2004.07.010.

[191] G. Opdenakker *et al.*, "Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology," *J. Leukoc. Biol.*, vol. 69, no. 6, pp. 851–859, Jun. 2001, doi: 10.1189/JLB.69.6.851.

[192] C. Matache *et al.*, "Matrix metalloproteinase-9 and its natural inhibitor TIMP-1 expressed or secreted by peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus," *J. Autoimmun.*, vol. 20, no. 4, pp. 323–331, Jun.

2003, doi: 10.1016/S0896-8411(03)00037-4.

[193] G. Sapna, S. Gokul, and K. Bagri-Manjrekar, “Matrix metalloproteinases and periodontal diseases,” *Oral Dis.*, vol. 20, no. 6, pp. 538–550, Sep. 2014, doi: 10.1111/ODI.12159.

[194] W. Li, Y. Zhu, P. Singh, D. H. Ajmera, J. Song, and P. Ji, “Association of common variants in MMPs with periodontitis risk,” *Dis. Markers*, vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/1545974.

[195] P. Ö. Söder, J. H. Meurman, T. Jogestrand, J. Nowak, and B. Söder, “Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in blood as markers for early atherosclerosis in subjects with chronic periodontitis,” *J. Periodontal Res.*, vol. 44, no. 4, pp. 452–458, Aug. 2009, doi: 10.1111/J.1600-0765.2008.01145.X.

[196] A. Yabluchanskiy, Y. Ma, R. P. Iyer, M. E. Hall, and M. L. Lindsey, “Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease,” *Physiology*, vol. 28, no. 6, pp. 391–403, Nov. 2013, doi: 10.1152/PHYSIOL.00029.2013/ASSET/IMAGES/LARGE/PHY0061301900006.JPEG.

[197] H. A. Schenkein and B. G. Loos, “Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases,” *J. Periodontol.*, vol. 84, no. 4-s, pp. S51–S69, Apr. 2013, doi: 10.1902/JOP.2013.134006.

[198] C. M. Díaz *et al.*, “Molecular inflammation and oxidative stress are shared mechanisms involved in both myocardial infarction and periodontitis,” *J. Periodontal Res.*, vol. 55, no. 4, pp. 519–528, Aug. 2020, doi: 10.1111/JRE.12739.

[199] D. A. Siwik, P. J. Pagano, and W. S. Colucci, “Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts,” *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.*, vol. 280, no. 1 49-1, pp. 53–60, 2001, doi: 10.1152/AJPCELL.2001.280.1.C53/ASSET/IMAGES/LARGE/H00110272006.JPEG.

[200] C. G., “The crevicular fluid,” *Monogr. Oral Sci.*, vol. 3, pp. 1–122, 1974, doi: 10.11237/JSOI.14.513.

[201] R. NAKAMURA, N. MABUCHI, M. SUGITA, M. KITAGO, M. SHIRAKI, and Y. IWAYAMA, “Studies of gingival fluid,” *Periodontics*, vol. 5, no. 2, pp. 161–

166, 1967, doi: 10.2329/PERIO.37.325.

[202] S. P. Barros, R. Williams, S. Offenbacher, and T. Morelli, “Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis,” *Periodontol. 2000*, vol. 70, no. 1, pp. 53–64, Feb. 2016, doi: 10.1111/PRD.12107.

[203] “Transporting Epithelia - Michael Berridge - Google Books.” https://books.google.com.tr/books?hl=en&lr=&id=KtDy4p7GpxUC&oi=fnd&pg=PP1&ots=SxYNfdFb58&sig=XNZc4oepc7_rmMbUIrYXppo7nW8&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false (accessed Apr. 06, 2023).

[204] J. Diamond, J. T.- Nature, and undefined 1966, “Role of long extracellular channels in fluid transport across epithelia,” *Springer*, Accessed: Apr. 06, 2023. [Online]. Available: https://link.springer.com/content/pdf/10.1038/210817a0.pdf.

[205] K. Tolo, “Transport across stratified nonkeratinized epithelium,” *J. Periodontal Res.*, vol. 6, no. 4, pp. 237–242, 1971, doi: 10.1111/J.1600-0765.1971.TB00614.X.

[206] R. T. Demmer *et al.*, “Transcriptomes in healthy and diseased gingival tissues,” *Wiley Online Libr.*, vol. 79, no. 11, pp. 2112–2124, Nov. 2008, doi: 10.1902/jop.2008.080139.

[207] M. Kebschull, R. Demmer, B. Grün, P. Guarnieri, P. Pavlidis, and P. Papapanou, “Gingival tissue transcriptomes identify distinct periodontitis phenotypes,” *journals.sagepub.com*, vol. 93, no. 5, pp. 459–468, 2014, doi: 10.1177/0022034514527288.

[208] M. Kebschull, P. Guarnieri, R. T. Demmer, A. L. Boulesteix, P. Pavlidis, and P. N. Papapanou, “Molecular differences between chronic and aggressive periodontitis,” *journals.sagepub.com*, vol. 92, no. 12, pp. 1081–1088, 2013, doi: 10.1177/0022034513506011.

[209] K. J. Tolo, “A study of permeability of gingival pocket epithelium to albumin in guinea pigs and Norwegian pigs,” *Arch. Oral Biol.*, vol. 16, no. 8, pp. 881-IN13, Aug. 1971, doi: 10.1016/0003-9969(71)90178-6.

[210] J. Schwartz, F. L. Stinson, and R. B. Parker, “The Passage of Tritiated Bacterial Endotoxin across Intact Gingival Crevicular Epithelium,” *J. Periodontol.*, vol. 43, no. 5, pp. 270–276, May 1972, doi: 10.1902/JOP.1972.43.5.270.

[211] M. Jacob and D. Chappell, “Reappraising Starling: The physiology of the microcirculation,” *Curr. Opin. Crit. Care*, vol. 19, no. 4, pp. 282–289, Aug.

2013, doi: 10.1097/MCC.0B013E3283632D5E.

[212] J. R. Levick and C. C. Michel, “Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 87, no. 2, pp. 198–210, Jul. 2010, doi: 10.1093/CVR/CVQ062.

[213] H. H. Lipowsky, L. Gao, and A. Lescanic, “Shedding of the endothelial glycocalyx in arterioles, capillaries, and venules and its effect on capillary hemodynamics during inflammation,” *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, vol. 301, no. 6, pp. 2235–2245, Dec. 2011, doi: 10.1152/AJPHEART.00803.2011/SUPPL_FILE/PODCAST.MP3.

[214] R. K. Reed and K. Rubin, “Transcapillary exchange: role and importance of the interstitial fluid pressure and the extracellular matrix,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 87, no. 2, pp. 211–217, Jul. 2010, doi: 10.1093/CVR/CVQ143.

[215] J. M. Goodson, “Gingival crevice fluid flow,” *Periodontol. 2000*, vol. 31, no. 1, pp. 43–54, Feb. 2003, doi: 10.1034/J.1600-0757.2003.03104.X.

[216] V. J. Uitto, C. M. Overall, and C. McCulloch, “Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid,” *Periodontol. 2000*, vol. 31, no. 1, pp. 77–104, Feb. 2003, doi: 10.1034/J.1600-0757.2003.03106.X.

[217] G. S. Griffiths, “Formation, collection and significance of gingival crevice fluid,” *Periodontol. 2000*, vol. 31, no. 1, pp. 32–42, Feb. 2003, doi: 10.1034/J.1600-0757.2003.03103.X.

[218] M. Pöllänen, J. Salonen, V. U.-P. 2000, and undefined 2003, “Structure and function of the tooth–epithelial interface in health and disease,” *Wiley Online Libr.*, vol. 31, pp. 12–31, 2003, doi: 10.1034/j.1600-0757.2003.03102.x.

[219] J. E.-P. 2000 and undefined 2003, “Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications,” *cataniamedica.it*, Accessed: Apr. 07, 2023. [Online]. Available: https://www.cataniamedica.it/wp-content/uploads/2018/02/rid-Presentazione-gruppo-B.pdf.

[220] A. Cekici, A. Kantarci, … H. H.-P., and undefined 2014, “Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease,” *Wiley Online Libr.*, vol. 64, no. 1, pp. 57–80, Feb. 2014, doi: 10.1111/prd.12002.

[221] A. Delima, T. V. D.-P. 2000, and undefined 2003, “Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid,” *Wiley Online Libr.*, vol. 31, pp. 55–76, 2003, doi: 10.1034/j.1600-0757.2003.03105.x.

[222] M. Battino, M. S. Ferreiro, I. Gallardo, H. N. Newman, and P. Bullon, “The antioxidant capacity of saliva,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 29, no. 3, pp. 189–194, Mar. 2002, doi: 10.1034/J.1600-051X.2002.290301X.X.

[223] P. M.-C. research and undefined 2004, “Dental plaque as a microbial biofilm,” *karger.com*, vol. 38, pp. 204–211, 2004, doi: 10.1159/000077756.

[224] N. Pourtaghi, M. Radvar, J. Mooney, and D. F. Kinane, “The Effect of Subgingival Antimicrobial Therapy on the Levels of Stromelysin and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases in Gingival Crevicular Fluid,” *J. Periodontol.*, vol. 67, no. 9, pp. 866–870, Sep. 1996, doi: 10.1902/JOP.1996.67.9.866.

[225] G. C.-M. in oral science and undefined 1983, “Crevicular fluid updated,” *cir.nii.ac.jp*, Accessed: Apr. 07, 2023. [Online]. Available: https://cir.nii.ac.jp/crid/1571980074876382720.

[226] B. Krasse and J. Egelberg, “The relative proportions of sodium, potassium and calcium in gingival pocket fluid,” *Acta Odontol. Scand.*, vol. 20, no. 2, pp. 143–152, 1962, doi: 10.3109/00016356209026102.

[227] “Barthold, P.M., Narayanan, A.S., Gingival crevicular... - Google Akademik.” https://scholar.google.com/scholar?hl=tr&as_sdt=0%2C5&q=Barthold%2C+P.M.%2C+Narayanan%2C+A.S.%2C+Gingival+crevicular+fluid%3A+connective++tissue+elements+as+diagnostic+Markers%2C+“Biology+of+the+periodontal++connective+tissues”+de%2C+Quintessence+Publishing+Co.%2C+İllinois–USA%2C+s.++223-239%2C+1998.+&btnG= (accessed Apr. 07, 2023).

[228] D. H. Fine and I. D. Mandel, “Indicators of periodontal disease activity: an evaluation,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 13, no. 5, pp. 533–546, 1986, doi: 10.1111/J.1600-051X.1986.TB01502.X.

[229] B. M. Eley and S. W. Cox, “Bacterial proteases in gingival crevicular fluid before and after periodontal treatment,” *Br. Dent. J. 1995 1784*, vol. 178, no. 4, pp. 133–139, Feb. 1995, doi: 10.1038/sj.bdj.4808681.

[230] F. A. Akalin, D. Şengün, K. Eratalay, N. Renda, and G. Çağlayan, “Hydroxyproline and Total Protein Levels in Gingiva and Gingival Crevicular Fluid in Patients With Juvenile, Rapidly Progressive, and Adult Periodontitis,” *J. Periodontol.*, vol. 64, no. 5, pp. 323–329, May 1993, doi: 10.1902/JOP.1993.64.5.323.

[231] A. J. Smith, M. Addy, and G. Embery, “Gingival crevicular fluid

glycosaminoglycan levels in patients with chronic adult periodontitis," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 22, no. 5, pp. 355–361, May 1995, doi: 10.1111/J.1600-051X.1995.TB00161.X.

[232] N. Yamalik, K. Kilinç, F. Çağlayan, K. Eratalay, and G. Çağlayan, "Molecular size distribution analysis of human gingival proteoglycans and glycosaminoglycans in specific periodontal diseases," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 25, no. 2, pp. 145–152, Feb. 1998, doi: 10.1111/J.1600-051X.1998.TB02420.X.

[233] L. - T Hou, C. - M Liu, and E. F. Rossomando, "Crevicular interleukin-1β in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 22, no. 2, pp. 162–167, Feb. 1995, doi: 10.1111/J.1600-051X.1995.TB00128.X.

[234] E. F. Rossomando, J. E. Kennedy, and J. Hadjimichael, "Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans," *Arch. Oral Biol.*, vol. 35, no. 6, pp. 431–434, Jan. 1990, doi: 10.1016/0003-9969(90)90205-O.

[235] R. J. Oringer *et al.*, "Relationship Between Crevicular Aspartate Aminotransferase Levels and Periodontal Disease Progression," *J. Periodontol.*, vol. 72, no. 1, pp. 17–24, Jan. 2001, doi: 10.1902/JOP.2001.72.1.17.

[236] J. Larivée, J. Sodek and, and J. M. Ferrier, "Collagenase and collagenase inhibitor activities in crevicular fluid of patients receiving treatment for localized juvenile periodontitis," *J. Periodontal Res.*, vol. 21, no. 6, pp. 702–715, Nov. 1986, doi: 10.1111/J.1600-0765.1986.TB01508.X.

[237] C. N. Kennett, S. W. Cox, and B. M. Eley, "Comparative histochemical, biochemical and immunocytochemical studies of cathepsin B in human gingival," *J. Periodontal Res.*, vol. 29, no. 3, pp. 203–213, May 1994, doi: 10.1111/J.1600-0765.1994.TB01214.X.

[238] I. Ishikawa, G. Cimasoni, and C. Ahmad-Zadeh, "Possible role of lysosomal enzymes in the pathogenesis of periodontitis: A study on cathepsin D in human gingival fluid," *Arch. Oral Biol.*, vol. 17, no. 1, pp. 111–117, Jan. 1972, doi: 10.1016/0003-9969(72)90138-0.

[239] L. M. Golub, K. Siegel, N. S. Ramamurthy, and I. D. Mandel, "Some Characteristics of Collagenase Activity in Gingival Crevicular Fluid and Its Relationship to Gingival Diseases in Humans,"

http://dx.doi.org/10.1177/00220345760550060701, vol. 55, no. 6, pp. 1049–1057, Nov. 1976, doi: 10.1177/00220345760550060701.

[240] C. N. Kennett, S. W. Cox, and B. M. Eley, "Localization of Active and Inactive Elastase, Alpha-1-Proteinase Inhibitor, and Alpha-2-Macroglobulin in Human Gingiva," *http://dx.doi.org/10.1177/00220345950740020701*, vol. 74, no. 2, pp. 667–674, Feb. 1995, doi: 10.1177/00220345950740020701.

[241] M. I. Gazi, S. W. Cox, D. T. Clark, and B. M. Eley, "Comparison of host tissue and bacterial dipeptidyl peptidases in human gingival crevicular fluid by analytical isoelectric focusing," *Arch. Oral Biol.*, vol. 40, no. 8, pp. 731–736, Aug. 1995, doi: 10.1016/0003-9969(95)00032-K.

[242] M. A. Koss, C. E. Castro, K. M. Salúm, and M. E. López, "Enzymatic Profile of Gingival Crevicular Fluid in Association With Periodontal Status," *Lab. Med.*, vol. 40, no. 5, pp. 277–280, May 2009, doi: 10.1309/LMCNUQI8ULCUK2BK.

[243] D. Sakellari, J. M. Goodson, S. S. Socransky, A. Kolokotronis, and A. Konstantinidis, "Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 27, no. 1, pp. 53–60, Jan. 2000, doi: 10.1034/J.1600-051X.2000.027001053.X.

[244] P. - A Rotzetter, A. Le Liboux, E. Pichard, and G. Cimasoni, "Kinetics of spiramycin/metronidazole (Rodogyl®) in human gingival crevicular fluid, saliva and blood," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 21, no. 9, pp. 595–600, Oct. 1994, doi: 10.1111/J.1600-051X.1994.TB00749.X.

[245] H. Tenenbaum, F. Jehl, C. Gallion, and M. Dahan, "Amoxicillin and clavulanic acid concentrations in gingival crevicular fluid," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 24, no. 11, pp. 804–807, Nov. 1997, doi: 10.1111/J.1600-051X.1997.TB01193.X.

[246] W. S. McLaughlin, D. E. Ball, R. A. Seymour, F. Kamali, and K. White, "The pharmacokinetics of phenytoin in gingival crevicular fluid and plasma in relation to gingival overgrowth," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 22, no. 12, pp. 942–945, Dec. 1995, doi: 10.1111/J.1600-051X.1995.TB01799.X.

[247] P. A. Heasman, A. Ward, A. W. Barrett, R. A. Seymour, and G. Edwards, "Flurbiprofen in human crevicular fluid analyzed by highperformance liquid chromatography," *J. Periodontal Res.*, vol. 25, no. 2, pp. 88–92, Mar. 1990, doi: 10.1111/J.1600-0765.1990.TB00897.X.

[248] S. Sekino, P. Ramberg, and J. Lindhe, "The effect of systemic administration of

ibuprofen in the experimental gingivitis model," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 32, no. 2, pp. 182–187, Feb. 2005, doi: 10.1111/J.1600-051X.2005.00671.X.

[249] P. D. Marsh and D. J. Bradshaw, "Physiological Approaches to the Control of Oral Biofilms," *http://dx.doi.org/10.1177/08959374970110010901*, vol. 11, no. 1, pp. 176–185, Apr. 1997, doi: 10.1177/08959374970110010901.

[250] J. Egelberg, "Cellular elements in gingival pocket fluid," *Acta Odontol. Scand.*, vol. 21, no. 4, pp. 283–287, 1963, doi: 10.3109/00016356309028193.

[251] R. Kaslick, A. Chasens, … D. W.-J. of D., and undefined 1968, "Ultramicromethod for the collection of gingival fluid and quantitative analysis of its sodium content.," *cabdirect.org*, Accessed: Apr. 09, 2023. [Online]. Available: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19691404444.

[252] G. G.-P. 2000 and undefined 2003, "Formation, collection and significance of gingival crevice fluid," *Wiley Online Libr.*, vol. 31, pp. 32–42, 2003, doi: 10.1034/j.1600-0757.2003.03103.x.

[253] A. Haerian, E. Adonogianaki, J. Mooney, J. P. Docherty, and D. F. Kinane, "Gingival crevicular stromelysin, collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases levels in healthy and diseased sites," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 22, no. 7, pp. 505–509, 1995, doi: 10.1111/J.1600-051X.1995.TB00797.X.

[254] H. Skapski and T. Lehner, "A crevicular washing method for investigating immune components of crevicular fluid in man," *J. Periodontal Res.*, vol. 11, no. 1, pp. 19–24, Feb. 1976, doi: 10.1111/J.1600-0765.1976.TB00046.X.

[255] S. Challacombe, … M. R.-C. and experimental, and undefined 1978, "Passage of intact IgG from plasma to the oral cavity via crevicular fluid," *ncbi.nlm.nih.gov*, vol. 34, pp. 417–422, 1978, Accessed: Apr. 09, 2023. [Online]. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1537551/.

[256] F. O.-H. O. Acta and undefined 1970, "Preliminary observations on the presence and origin of serum albumin in human saliva," *cir.nii.ac.jp*, Accessed: Apr. 09, 2023. [Online]. Available: https://cir.nii.ac.jp/crid/1570854176384984448.

[257] C. G, "Crevicular fluid updated. Monographs in Oral," *Science (80-.).*, vol. 12, 1983, Accessed: Apr. 09, 2023. [Online]. Available: https://cir.nii.ac.jp/crid/1571980074776885504.

[258] J. Lindhe, R. Attström, and A. - L Björn, "Influence of sex hormones on gingival exudation in gingivitis- free female dogs," *J. Periodontal Res.*, vol. 3, no. 4, pp.

273–278, 1968, doi: 10.1111/J.1600-0765.1968.TB01930.X.

[259] C. Figueredo, … M. R.-J. of, and undefined 1999, "Increased interleukin- 1β concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic of periodontitis," *Wiley Online Libr.*, vol. 70, no. 12, pp. 1457–1463, Dec. 1999, doi: 10.1902/jop.1999.70.12.1457.

[260] A. Ozkavaf *et al.*, "Analysis of factors that may affect the enzymatic profile of gingival crevicular fluid: sampling technique, sequential sampling and mode of data presentation.," *J. Oral Sci.*, vol. 43, no. 1, pp. 41–48, Mar. 2001, doi: 10.2334/JOSNUSD.43.41.

[261] N. Özmeriç, B. Bal, K. Baloş, … E. B.-J. of, and undefined 1998, "The correlation of gingival crevicular fluid interleukin- 8 levels and periodontal status in localized juvenile periodontitis," *Wiley Online Libr.*, vol. 69, no. 11, pp. 1299–1304, Nov. 1998, doi: 10.1902/jop.1998.69.11.1299.

[262] J. Egelberg and R. Attström, "Comparison between orifice and intracrevicular methods of sampling gingival fluid," *J. Periodontal Res.*, vol. 8, no. 6, pp. 384–388, 1973, doi: 10.1111/J.1600-0765.1973.TB00773.X.

[263] G. N. (George N. Jenkins 1914-, "The physiology and biochemistry of the mouth / G. Neil Jenkins," 1978.

[264] J. Lindhe and R. Attström, "Gingival exudation during the menstrual cycle," *J. Periodontal Res.*, vol. 2, no. 3, pp. 194–198, 1967, doi: 10.1111/J.1600-0765.1967.TB01889.X.

[265] C. C. Tsai *et al.*, "Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis," *Wiley Online Libr.*, vol. 40, no. 5, pp. 378–384, Oct. 2005, doi: 10.1111/j.1600-0765.2005.00818.x.

[266] G. S. Griffiths, J. A. C. Sterne, J. M. A. Wilton, K. A. Eaton, and N. W. Johnson, "Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 19, no. 7, pp. 464–470, 1992, doi: 10.1111/J.1600-051X.1992.TB01158.X.

[267] I. B. Lamster, D. S. Harper, S. Goldstein, R. S. Celenti, and R. L. Oshrain, "The effect of sequential sampling on crevicular fluid volume and enzyme activity," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 16, no. 4, pp. 252–258, Apr. 1989, doi: 10.1111/J.1600-051X.1989.TB01650.X.

[268] E. B. Hancock, R. J. Cray, and T. J. O'Leary, "The Relationship Between Gingival Crevicular Fluid and Gingival Inflammation: A Clinical and Histologic Study," *J. Periodontol.*, vol. 50, no. 1, pp. 13–19, Jan. 1979, doi: 10.1902/JOP.1979.50.1.13.

[269] E. W.- Periodontics and undefined 1967, "Studies of gingival fluid," *cir.nii.ac.jp*, Accessed: Apr. 09, 2023. [Online]. Available: https://cir.nii.ac.jp/crid/1570854174395001600.

[270] M. Ciantar, D. C.-J. of periodontal research, and undefined 1998, "Periotron 8000: calibration characteristics and reliability," *Wiley Online Libr.*, vol. 33, no. 5, pp. 259–264, 1998, doi: 10.1111/j.1600-0765.1998.tb02198.x.

[271] R. Deinzer, … B. M.-J. of clinical, and undefined 2000, "Methodological considerations in the assessment of gingival crevicular fluid volume," *Wiley Online Libr.*, vol. 27, no. 7, pp. 481–488, 2000, doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027007481.x.

[272] T. F. Tçzüm *et al.*, "Critical steps in electronic volume quantification of gingival crevicular fluid: the potential impact of evaporation, fluid retention, local conditions and repeated," *Wiley Online Libr.*, vol. 39, no. 5, pp. 344–357, Oct. 2004, doi: 10.1111/j.1600-0765.2004.00758.x.

[273] H. Hatipoğlu, N. Yamalik, A. Berberoğlu, and K. Eratalay, "Impact of the Distinct Sampling Area on Volumetric Features of Gingival Crevicular Fluid," *J. Periodontol.*, vol. 78, no. 4, pp. 705–715, Apr. 2007, doi: 10.1902/JOP.2007.060331.

[274] L. Jin, B. Söder, E. C.-J. of periodontology, and undefined 2000, "Interleukin- 8 and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid in relation to periodontopathogens in untreated adult periodontitis," *Wiley Online Libr.*, vol. 71, no. 6, pp. 929–939, Jun. 2000, doi: 10.1902/jop.2000.71.6.929.

[275] M. Bickel and G. Cimasoni, "The pH of human crevicular fluid measured by a new microanalytical technique," *J. Periodontal Res.*, vol. 20, no. 1, pp. 35–40, 1985, doi: 10.1111/J.1600-0765.1985.TB00408.X.

[276] N. S.-J. of Periodontology and undefined 1977, "Evaluation of an electronic device for gingival fluid quantitation.," *europepmc.org*, Accessed: Apr. 09, 2023. [Online]. Available: https://europepmc.org/article/med/69703.

[277] T. Dietrich, K. J. Joshipura, B. Dawson-Hughes, and H. A. Bischoff-Ferrari,

"Association between serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D3 and periodontal disease in the US population," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 80, no. 1, pp. 108–113, Jul. 2004, doi: 10.1093/AJCN/80.1.108.

[278] K. A. Boggess, J. A. Espinola, K. Moss, J. Beck, S. Offenbacher, and C. A. Camargo Jr., "Vitamin D Status and Periodontal Disease Among Pregnant Women," *J. Periodontol.*, vol. 82, no. 2, pp. 195–200, Feb. 2011, doi: 10.1902/JOP.2010.100384.

[279] E. N. Alshouibi, E. K. Kaye, H. J. Cabral, C. W. Leone, and R. I. Garcia, "Vitamin D and periodontal health in older men," *journals.sagepub.com*, vol. 92, no. 8, pp. 689–693, Aug. 2013, doi: 10.1177/0022034513495239.

[280] C. F. Hildebolt *et al.*, "Estrogen and/or calcium plus vitamin D increase mandibular bone mass," *Wiley Online Libr.*, vol. 75, no. 6, pp. 811–816, Jun. 2004, doi: 10.1902/jop.2004.75.6.811.

[281] D. Douglas Miley *et al.*, "Cross- sectional study of vitamin D and calcium supplementation effects on chronic periodontitis," *Wiley Online Libr.*, vol. 80, no. 9, pp. 1433–1439, Sep. 2009, doi: 10.1902/jop.2009.090077.

[282] E. A. Krall, C. Wehler, R. I. Garcia, S. S. Harris, and B. Dawson-Hughes, "Calcium and vitamin D supplements reduce tooth loss in the elderly," *Am. J. Med.*, vol. 111, no. 6, pp. 452–456, Oct. 2001, doi: 10.1016/S0002-9343(01)00899-3.

[283] Y. Zhan *et al.*, "Prospective study of serum 25-hydroxy vitamin D and tooth loss," *journals.sagepub.com*, vol. 93, no. 7, pp. 639–644, 2014, doi: 10.1177/0022034514534985.

[284] M. M. Meghil *et al.*, "The influence of vitamin D supplementation on local and systemic inflammatory markers in periodontitis patients: A pilot study," *Oral Dis.*, vol. 25, no. 5, pp. 1403–1413, Jul. 2019, doi: 10.1111/ODI.13097.

[285] J. Perayil, K. Menon, S. Kurup, … A. T.-J. of clinical and, and undefined 2015, "Influence of vitamin D & calcium supplementation in the management of periodontitis," *ncbi.nlm.nih.gov*, Accessed: May 30, 2023. [Online]. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4525604/.

[286] M. Perić, D. Maiter, E. Cavalier, J. F. Lasserre, and S. Toma, "The Effects of 6-Month Vitamin D Supplementation during the Non-Surgical Treatment of Periodontitis in Vitamin-D-Deficient Patients: A Randomized Double-Blind

Placebo-Controlled Study," *Nutr. 2020, Vol. 12, Page 2940*, vol. 12, no. 10, p. 2940, Sep. 2020, doi: 10.3390/NU12102940.

[287] L. S. F. e. Ribeiro, N. S. Araujo, C. L. Zilli Vieira, J. N. dos Santos, and P. R. Cury, "Impact of serum vitamin D levels on periodontal healing outcomes: A preliminary cohort study," *Int. J. Dent. Hyg.*, vol. 21, no. 2, pp. 291–297, May 2023, doi: 10.1111/IDH.12619.

[288] I. Olszewska-Czyz and E. Firkova, "Vitamin D3 Serum Levels in Periodontitis Patients: A Case–Control Study," *Med. 2022, Vol. 58, Page 585*, vol. 58, no. 5, p. 585, Apr. 2022, doi: 10.3390/MEDICINA58050585.

[289] J. D. Bashutski *et al.*, "The impact of vitamin D status on periodontal surgery outcomes," *journals.sagepub.com*, vol. 90, no. 8, pp. 1007–1012, Aug. 2011, doi: 10.1177/0022034511407771.

[290] J. Kelly, A. Lin, C. J. Wang, S. Park, and I. Nishimura, "Vitamin D and bone physiology: Demonstration of vitamin D deficiency in an implant osseointegration rat model," *J. Prosthodont.*, vol. 18, no. 6, pp. 473–478, Aug. 2009, doi: 10.1111/j.1532-849X.2009.00446.x.

[291] A. Akhavan, Z. Noroozi, A. A. Shafiei, A. Haghighat, G. R. Jahanshahi, and (Late) Sayed Behrouz Mousavi, "The effect of vitamin D supplementation on bone formation around titanium implants in diabetic rats," *Dent. Res. J. (Isfahan).*, vol. 9, no. 5, p. 582, 2012, doi: 10.4103/1735-3327.104877.

[292] T. INGMAN, T. SORSA, J. MICHAELIS, and Y. T. KONTTINEN, "Matrix Metalloproteinases- 1, - 3, and - 8 in Adult Periodontitis in Situ An Immunohistochemical Study," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 732, no. 1, pp. 459–461, 1994, doi: 10.1111/J.1749-6632.1994.TB24785.X.

[293] G. Maeso, M. Bravo, A. B.-Q. International, and undefined 2007, "Levels of metalloproteinase-2 and-g and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis, gingivitis, and," *academia.edu*, Accessed: May 29, 2023. [Online]. Available: https://www.academia.edu/download/66539037/Levels_of_metalloproteinase-2_and_-9_and20210422-861-41q24g.pdf.

[294] P. C. Smith, V. C. Muñoz, L. Collados, and A. D. Oyarzún, "In situ detection of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in gingival epithelium in human periodontal disease," *J. Periodontal Res.*, vol. 39, no. 2, pp. 87–92, Apr. 2004,

doi: 10.1111/J.1600-0765.2004.00705.X.

[295] C. A. Meschiari, A. M. Marcaccini, B. C. Santos Moura, L. R. Zuardi, J. E. Tanus-Santos, and R. F. Gerlach, “Salivary MMPs, TIMPs, and MPO levels in periodontal disease patients and controls,” *Clin. Chim. Acta*, vol. 421, pp. 140–146, Jun. 2013, doi: 10.1016/J.CCA.2013.03.008.

[296] I. Luchian *et al.*, “Using Salivary MMP-9 to Successfully Quantify Periodontal Inflammation during Orthodontic Treatment,” *J. Clin. Med. 2021, Vol. 10, Page 379*, vol. 10, no. 3, p. 379, Jan. 2021, doi: 10.3390/JCM10030379.

[297] N. S. Romero-Castro *et al.*, “Relationship between TNF-α, MMP-8, and MMP-9 levels in gingival crevicular fluid and the subgingival microbiota in periodontal disease,” *Odontology*, vol. 108, no. 1, pp. 25–33, Jan. 2020, doi: 10.1007/S10266-019-00435-5/TABLES/2.

[298] D. John Victor, S. Subramanian, P. Ponnudurai Samuel Gnana, S. Praneeth Kolagani, P. Psg, and S. K. Praneeth Assessment, “Assessment of Matrix Metalloproteinases-8 and -9 in Gingival Crevicular Fluid of Smokers and Non-smokers with Chronic Periodontitis Using ELISA,” *J. Int. Oral Heal. JIOH*, vol. 6, no. 6, p. 67, 2014, Accessed: May 29, 2023. [Online]. Available: /pmc/articles/PMC4295459/.

[299] O. Özçaka, N. Biçakci, P. Pussinen, T. Sorsa, T. Köse, and N. Buduneli, “Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis,” *Oral Dis.*, vol. 17, no. 1, pp. 68–76, Jan. 2011, doi: 10.1111/J.1601-0825.2010.01705.X.

[300] K. Bahar-Shany, A. Ravid, and R. Koren, “Upregulation of MMP-9 production by TNFα in keratinocytes and its attenuation by vitamin D,” *J. Cell. Physiol.*, vol. 222, no. 3, pp. 729–737, Mar. 2010, doi: 10.1002/JCP.22004.

[301] N. Moradi *et al.*, “Role of serum MMP-9 levels and vitamin D receptor polymorphisms in the susceptibility to coronary artery disease: An association study in Iranian population,” *Gene*, vol. 628, pp. 295–300, Sep. 2017, doi: 10.1016/J.GENE.2017.07.060.

[302] H. Wasse, F. Cardarelli, C. De Staercke, C. Hooper, E. Veledar, and I. Guessous, “25-hydroxyvitamin D concentration is inversely associated with serum MMP-9 in a cross-sectional study of African American ESRD patients,” *BMC Nephrol.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–9, May 2011, doi: 10.1186/1471-2369-12-24/TABLES/5.

[303] S. P. Anand and P. Selvaraj, “Effect of 1, 25 dihydroxyvitamin D3 on matrix metalloproteinases MMP-7, MMP-9 and the inhibitor TIMP-1 in pulmonary tuberculosis,” *Clin. Immunol.*, vol. 133, no. 1, pp. 126–131, Oct. 2009, doi: 10.1016/J.CLIM.2009.06.009.

[304] M. S. Baek *et al.*, “Vitamin D Inhibits Expression and Activity of Matrix Metalloproteinase in Human Lung Fibroblasts (HFL-1) Cells,” *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul).*, vol. 77, no. 2, pp. 73–80, Aug. 2014, doi: 10.4046/TRD.2014.77.2.73.

[305] H. Hamid, Z. Khurshid, N. Adanir, M. S. Zafar, and S. Zohaib, “Covid-19 pandemic and role of human saliva as a testing biofluid in point-of-care technology,” *Eur. J. Dent.*, 2020, doi: 10.1055/S-0040-1713020.

[306] T. Bibi, Z. Khurshid, A. Rehman, E. Imran, K. C. Srivastava, and D. Shrivastava, “Gingival Crevicular Fluid (GCF): A Diagnostic Tool for the Detection of Periodontal Health and Diseases,” *Mol. 2021, Vol. 26, Page 1208*, vol. 26, no. 5, p. 1208, Feb. 2021, doi: 10.3390/MOLECULES26051208.

[307] S. G. Grossi *et al.*, “Assessment of Risk for Periodontal Disease. II. Risk Indicators for Alveolar Bone Loss,” *J. Periodontol.*, vol. 66, no. 1, pp. 23–29, Jan. 1995, doi: 10.1902/JOP.1995.66.1.23.

[308] A. B.- Gerodontics and undefined 1987, “Proximal alveolar bone loss in a longitudinal radiographic investigation: IV. Smoking and some other factors influencing the progress in individuals with at,” *cir.nii.ac.jp*, Accessed: May 29, 2023. [Online]. Available: https://cir.nii.ac.jp/crid/1573950399713435648.

[309] J. Bergström, S. Eliasson, J. D.-J. of periodontology, and undefined 2000, “A 10- year prospective study of tobacco smoking and periodontal health,” *Wiley Online Libr.*, vol. 71, no. 8, pp. 1338–1347, Aug. 2000, doi: 10.1902/jop.2000.71.8.1338.

[310] J. D. Beck, L. Cusmano, W. Greene-Helms, G. G. Koch, and S. Offenbacher, “A 5-year study of attachment loss in community-dwelling older adults: incidence density,” *J. Periodontal Res.*, vol. 32, no. 6, pp. 506–515, Aug. 1997, doi: 10.1111/J.1600-0765.1997.TB00566.X.

[311] S. L. Tomar and S. Asma, “Smoking-Attributable Periodontitis in the United States: Findings From NHANES III,” *J. Periodontol.*, vol. 71, no. 5, pp. 743–751, May 2000, doi: 10.1902/JOP.2000.71.5.743.

[312] J. J. Zambon, S. G. Grossi, E. E. Machtei, A. W. Ho, R. Dunford, and R. J. Genco, “Cigarette Smoking Increases the Risk for Subgingival Infection With Periodontal Pathogens,” *J. Periodontol.*, vol. 67, no. 10s, pp. 1050–1054, Oct. 1996, doi: 10.1902/JOP.1996.67.10S.1050.

[313] M. Umeda, C. Chen, I. Bakker, A. Contreras, J. L. Morrison, and J. Slots, “Risk indicators for harboring periodontal pathogens,” *J. Periodontol.*, vol. 69, no. 10, pp. 1111–1118, Oct. 1998, doi: 10.1902/JOP.1998.69.10.1111.

[314] N. G. Clarke, B. C. Shephard, and R. S. Hirsch, “The effects of intra-arterial epinephrine and nicotine on gingival circulation,” *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol.*, vol. 52, no. 6, pp. 577–582, Dec. 1981, doi: 10.1016/0030-4220(81)90071-2.

[315] J. BERGSTRÖM, “Oral hygiene compliance and gingivitis expression in cigarette smokers,” *Eur. J. Oral Sci.*, vol. 98, no. 6, pp. 497–503, Dec. 1990, doi: 10.1111/J.1600-0722.1990.TB01004.X.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Yeşim AYHAN YILDIRIM

Doğum Yeri: ANKARA

Doğum Tarihi: 02.03.1993

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce, Çince

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Tevfik İleri İlköğretim Okulu, 2007

Ankara Atatürk Lisesi, 2012

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2017

Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, 2023

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, 2023

E-posta: yesimayhan@erciyes.edu.tr