

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**DİŞETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-İMLANT OLUK
SIVISINDA SKLEROSTİN, TWEAK, RANKL VE OPG
ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Dt. Nil YAKAR

**Periodontoloji Programı
UZMANLIK TEZİ**

ANKARA

2017

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**DİŞETİ OLUĞU SIVISI VE PERİ-İMLANT OLUK
SIVISINDA SKLEROSTİN, TWEAK, RANKL VE OPG
ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Dt. Nil YAKAR

**Periodontoloji Programı
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Güliz N. GÜNCÜ**

**ANKARA
2017**

ONAY SAYFASI

20/11/2017

Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığına

Dt. Nil YAKAR'nın 20 Kasım 2017 tarihinde jürimiz önünde yaptığı savunmasında "Diş Eti Oluşu Sıvısı ve Peri-implant Oluk Sıvısında Sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG Oranlarının Karşılaştırması" başlıklı çalışması jürimiz tarafından Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.


Jüri Başkanı : Prof. Dr. Rahime M. Nohutcu



Tez Danışmanı : Prof. Dr. Güliz N. Güncü



Üye : Prof. Dr. Berrin Ünsal



ONAY : Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıda jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi tarafından kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Osman Taha KÖSEÖĞLU
Dekan Vekili

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Fakültemiz tarafından onaylanan uzmanlık tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

o Tezimin tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

(Bu seçenkle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)

Tezimin 01.01.2019 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)

o Tezimin tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

o Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

25.12.2017

Nil Yakar



TEŞEKKÜR

Periodontoloji eğitimim ve tez dönemim boyunca bana daima yol gösterip destek olan sevgili tez danışmanım Prof. Dr. Güliz N. Güncü başta olmak üzere,

Tez çalışmalarım boyunca benden her türlü desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Rahime Nohutcu ve Doç. Dr. Abdullah C. Akman'a

Uzmanlık dönemim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Feriha Çağlayan, Prof. Dr. Dilek İlhan, Prof. Dr. Ezel Berker, Prof. Dr. Nermin Yamalık, Prof. Dr. Alev Akalın, Prof. Dr. Tolga F. Tözüm, Doç. Dr. Erhan Dursun, Yard. Doç. Dr. Gencay Keçeli, Yard. Doç. Dr. Burak Kutlu, Dr. Yağmur İlarıslan ve Dr. Tuğba Duruel'e,

Çalışmaktan her zaman keyif aldığım arkadaşlarım Uzm. Dt. Yeşim Özdemir, Dt. Merva Parlak, Uzm. Dt. Buket Acar, Dt. Meltem Özdemir, Dt. Birtan Tolga Yılmaz, Dt. Elnur Comerdov, Dt. Bünyamin Çalışan, Dt. Samir Göyüşov, Dt. Onurcem Duruel, Dt. Mehmet Özgür, Dt. Selcen Özcan Bulut, Dt. Buğra Çakın, Dt. Ege Nadir Aytaç ve Dt. Tuğrul Gür'e,

Tez çalışmamın biyokimya aşamalarına destek veren Doç. Dr. Aslı Pınar'a, laboratuvar çalışmalarında emeği geçen Yasin Kıran ve Zeliha Erdoğan'a, çalışmamın istatistiksel analizini yapan Prof. Dr. Erdem Karabulut'a,

Bana her zaman destek olan, anneme, babama ve kardeşime

Sonsuz teşekkürler...

ÖZET

Yakar, N. Dişeti Oluğu Sıvısı ve Peri-implant Oluk Sıvısında Sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG Oranlarının Karşılaştırılması. Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Uzmanlık Tezi, Ankara 2017. Periodontal ve peri-implant hastalıkların patogeneğinde lokal ve sistemik etkenlerin kombinasyonu rol oynamaktadır. Konak kaynaklı enzimler, sitokinler ve proinflatuar belirteçler bu yıkımda rol oynayan ana elemanlardır. Bu çalışmanın amacı dişeti oluğu sıvısı (DOS) ve peri-implant oluk sıvısı (PİOS)'nda sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG düzeylerini periodontal ve peri-implant dokuların hastalık ve sağlık durumlarında tespit etmek ve biyobelirteç olarak kullanılabilir potansiyellerini değerlendirmektir. Çalışma grubumuz yaş ortalaması 51.84 ±14.05 olan 50 kadın, 41erkek toplam 91 kişiden oluştu. Bu bireylerde bulunan 39 diş ve sabit protetik restorasyonlar ile restore edilmiş 52 implant klinik ve radyografik muayene sonuçlarına göre 'Periodontitis'(n=22), 'Periodontal Sağlık' (n=17), 'Peri-implantitis' (n=27) ve 'Peri-implant Sağlık'(n=25) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Tüm gruplarda periodontal ve peri-implant parametrelerin (cep derinliği, dişeti çekilmesi, dişeti kanama zamanı indeksi, gingival indeks ve plak indeksi) ölçümünün yanı sıra DOS ve PİOS örneklerinin eldesi gerçekleştirildi. DOS ve PİOS örneklerindeki, sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG düzeyleri uygun ELISA testleri ile ölçüldü. Çalışmanın sonucunda hastalık gruplarında sağlık gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek TWEAK, RANKL ve OPG düzeyleri tespit edildi. Sklerostin düzeylerinin peri-implantitis grubunda peri-implant sağlık grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu görüldü. PİOS ve DOS'ta kemik metabolizmasının ürünleri bir arada inceleyen araştırmamızda sklerostinin peri-implantitis grubunda peri-implant sağlık grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunması nedeniyle peri-implant hastalık teşhisi açısından; diğer yandan TWEAK'in hem diş hem de implantlarda hastalık durumlarında sağlık durumlarına göre daha yüksek bulunması ve periodontal klinik parametrelerle korele olması nedeniyle hem periodontal ve hem de peri-implant hastalık açısından iyi birer biyobelirteç olabilecekleri sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: peri-implantitis, DOS, PİOS, sklerostin, TWEAK

Destekleyen Kurum: THD-2016-12089 no'lu H.Ü.B.A.P projesi

ABSTRACT

Yakar N., Evaluation of Gingival Crevicular Fluid and Peri-Implant Crevicular Fluid Levels of Sclerostin, TWEAK, RANKL and OPG. Hacettepe University Faculty of Dentistry, Periodontology Specialization Programme, Ankara, 2017. The combination of local and systemic factors plays a role in the pathogenesis of periodontal and peri-implant diseases. Host-derived enzymes, cytokines and other proinflammatory mediators play an integral role in this destruction. The aim of this study is to detect gingival crevicular fluid (GCF) and peri-implant crevicular (PICF) fluid levels of sclerostin, TWEAK, RANKL and OPG in periodontal and peri-implant tissues in disease and health conditions and also to assess the potential for use as biomarkers. The study population was consisted of 50 women and 41 men, in total of 91 individuals, with a mean age of 51.84 ± 14.05 . Periodontitis (n=22), periodontal health (n=17), peri-implantitis (n=27) and 'peri-implant health' (n=25) groups were established according to clinical and radiographic examination results of 39 teeth and 52 implants restored with fixed prosthetic restorations. In all groups, measurements of periodontal and peri-implant parameters (probing depth, gingival recession, gingival bleeding time index, gingival index and plaque index) were performed and GCF and PICF samples were also collected. Sclerostin, TWEAK, RANKL and OPG levels in GCF and PICF were measured with ELISA tests. 'Diseased' groups revealed significantly higher TWEAK, RANKL and OPG levels compared to 'healthy' groups. Higher sclerostin levels have been detected in peri-implantitis groups when compared to peri-implant health group. In this study which evaluates four different bone metabolism products at the same time, sclerostin is thought to be a biomarker for peri-implant disease diagnosis due to the significantly higher levels in the peri-implantitis group than in the peri-implant health group. Moreover, TWEAK is found to be a better biomarker for both periodontal and peri-implant disease, due to the correlations with periodontal clinical parameters and the higher levels of TWEAK in disease conditions compared to the health in both dental implants and teeth.

Key words: peri-implantitis, PICF, GCF, sclerostin, TWEAK

Supported by: H.Ü.B.A.P. THD-2016-12089 Grant

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Periodonsiyum ve Periodontal Hastalıklar	5
2.2. Dental İmplantlar ve Peri-implant Hastalıklar	6
2.2.1. Peri-implant Anatomi	7
2.3. Patogenez	9
2.3.1. Periodontitis Patogenezi	9
2.3.2. Peri-implantitis Patogenezi	10
2.4 Kemik Metabolizması ve Düzenleyicileri	12
2.4.1. Kemik Metabolizmasının Santral Olarak Düzenlenmesi	13
2.4.2. Kemik Metabolizmasının Transkripsiyonel Olarak Düzenlenmesi	13
2.5. Kemik Metabolizmasında Etkili Bazı Faktörler	15
2.5.1. Sklerostin	15
2.5.2. TWEAK	18
2.5.3. RANKL-RANK- OPG	23
2.6 Periodontitiste ve Peri-implantitisin Teşhisinde Kullanılan Yöntemler	28
2.6.1. Klinik Teşhis Yöntemleri	28
2.6.2. İleri Teşhis Yöntemleri	29
2.7. Dişeti Oluğu Sıvısı	30
2.7.1. DOS Oluşumu	30
2.7.2. DOS'un Toplanması ve Hacim Ölçümü	31
2.7.3. DOS'un içeriği	31
2.8. Peri-implant Oluk Sıvısı	32
2.9. DOS ile PİOS'un Karşılaştırması	33
3. GEREÇLER VE YÖNTEM	35

3.1. Hasta Seçimi	35
3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi	35
3.3. Klinik Değerlendirme	36
3.3.1. Cep Derinliğinin Belirlenmesi	36
3.3.2. Dişeti Çekilme Miktarının Belirlenmesi	37
3.3.3. Dental Plak Varlığı ve Birikim Düzeyinin Belirlenmesi	37
3.3.4. Dişetinde Klinik İltihap Varlığı ve Şiddetinin Belirlenmesi	38
3.4. DOS ve PİOS Örneklerinin Elde Edilmesi ve Hacim Ölçümünün Yapılması	39
3.5. DOS ve PİOS'ta Sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG Miktarlarının Belirlenmesi	39
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	41
4. BULGULAR	42
4.1 Genel Bulgular	42
4.2 Klinik Bulgular	43
4.2.1. Cep derinliği (CD):	43
4.2.2. Dişeti Çekilmesi (DÇ):	44
4.2.3. Dişeti Kanama Zamanı İndeksi (DKZİ):	44
4.2.4. Gingival indeks (Gİ):	45
4.2.5. Plak indeksi (Pİ)	46
4.2.6. DOS/PİOS Hacmi	46
4.3 Biyokimyasal Parametreler	48
4.3.1 Sklerostin Düzeyleri	48
4.3.2 TWEAK Düzeyleri:	48
4.3.3. RANKL Düzeyleri	49
4.3.4. OPG Düzeyleri	50
4.3.5. RANKL/OPG Oranı	50
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	69
EK: Etik Kurul Onay Belgesi	93

SİMGELER VE KISALTMALAR

BMP	Kemik morfojenik proteini
CD	Cep Derinliği
DÇ	Dişeti çekilmesi
DKK-1	Dickkopf ilişkili Protein-1
DKZİ	Dişeti kanama zamanı indeksi
Fn14	Fibroblast growth factor-inducible 14
Gi	Gingival indeks
ICAM-1	Hücre içi adezyon molekülü-1
IL	İnterlökin
LDL	Düşük densiteli lipoprotein
LRP	Düşük densiteli lipoprotein reseptör ilişkili protein
M-CSF	Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
MAPK	Mitojen aktif protein kinaz
ml	Mililitre
MMP	Matriks metalloproteinaz
MPO	Myeloperoksidaz
NF-κB	Nükleer faktör kappa-beta
OPG	Osteoprotegerin

pg	Pikogram
PGE₂	Prostaglandin E ₂
Pİ	Plak indeksi
PINP	Prokollajen tip I N propeptid
PTH	Parathormon
RANK	Nükleer faktör kappa-betanın reseptör aktivatörü
RANKL	Nükleer faktör kappa-betanın reseptör aktivatörü ligandı
Runx2	<i>Runt</i> -ilişkili transkripsiyon faktörü 2
TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü-beta
TNF	Tümör nekroze edici faktör
TNFSF	Tümör nekroze edici faktör üst ailesi
TRAIL	Tümör nekroze faktör ilişkili apoptozis indükleyici ligand
TWEAK	Apoptosisin TNF ilişkili zayıf indükleyicisi
VCAM	Damarsal hücre adezyon molekülü
VEGF	Damarsal endotelial büyüme faktörü
Wnt	Wingless and INT-1

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. a. Diş – İmplant ve çevre dokuların karşılaştırılması b. Periodontitis – Peri-implantitis ve çevre dokuların karşılaştırılması	8
Şekil 2.2. Periodontal hastalık modeli	10
Şekil 2.3. Kemik metabolizmasındaki etkileşimler	14
Şekil 4.1. Peri-implantitis ve peri-implant sağlık gruplarındaki klinik parametre değerlerinin karşılaştırılması	47
Şekil 4.2. Periodontitis ve periodontal sağlık gruplarındaki klinik parametre değerlerinin karşılaştırılması	47
Şekil 4.3. Peri-implantitis ve peri-implant sağlık gruplarındaki biyokimyasal parametre değerlerinin karşılaştırılması	51
Şekil 4.4. Periodontitis ve periodontal sağlık gruplarındaki biyokimyasal parametre değerlerinin karşılaştırılması	52

TABLÖLAR

Tablo 2.1. Peri-implant Hastalıklar	7
Tablo 4.1. Gruplara ait yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımı	42
Tablo 4.2. Gruplara ait cep derinlikleri değerleri	43
Tablo 4.3. Gruplara ait dişeti çekilmesi değerleri	44
Tablo 4.4. Gruplara ait dişeti kanama zamanı indeksi (DKZI) değerleri	45
Tablo 4.5. Gruplara ait gingival indeks değerleri	45
Tablo 4.6. Gruplara ait plak indeksi değerleri	46
Tablo 4.7. Gruplara ait PİOS / DOS hacim değerleri	47
Tablo 4.8. Gruplara ait sklerostin değerleri	48
Tablo 4.9. Gruplara ait PİOS ve DOS TWEAK değerleri	49
Tablo 4.10. Gruplara ait PİOS ve DOS RANKL değerleri	50
Tablo 4.11. Gruplara ait PİOS ve DOS OPG değerleri	50
Tablo 4.12. Gruplara ait RANKL/OPG oranları	51
Tablo 4.13. Klinik ve biyokimyasal bulgular arasındaki korelasyonlar	53
Tablo 4.14. Biyokimyasal bulgular arasındaki korelasyonlar	53

1. GİRİŞ

Periodontal dokuların inflamatuvar hastalıkları gingivitis veya periodontitis olarak adlandırılmaktadır. Bağ dokusu ataçmanı ve kemik kaybı olmaksızın dişetinde görölen inflamasyona gingivitis; periodontal ligament, bağ dokusu ataçmanı ve kemik kaybı ile beraber görölen duruma ise periodontitis adı verilir (1). İmplant çevresi dokuların inflamatuvar hastalıkları ise peri-implant mukositis veya peri-implantitis olarak adlandırılır. İmplant çevresi yumuşak dokular ile sınırlı kalan inflamatuvar değişiklikler peri-implant mukositis, yumuşak dokular ile birlikte implant çevresi kemik kaybına sebep olan inflamasyon ise peri-implantitis olarak isimlendirilmiştir (2).

Periodontal ve peri-implant hastalıkların patogenezinde lokal ve sistemik etkenlerin kombinasyonu rol oynamaktadır (3). Spesifik bakteri türlerinin kolonizasyonu konakta inflamatuvar cevabın başlamasına sebep olur. Bu hastalıklarda esas etken olan bakteriyel plağa konağın cevabını genetik ve çevresel faktörler etkiler. Örneğin diyabet veya sigara kullanımının periodontal hastalığın oluşması ve ilerlemesinde etkisi olan faktörlerden olduğu bilinmektedir (4).

Periodontitis, diğer kronik hastalıklar gibi ‘‘kompleks’’ bir karaktere sahiptir. Kompleks hastalıklarda çeşitli etkenlerin kombinasyonu, ortalama bir klinik tablonun ortaya çıkmasına neden olur. Bu etkenlerden inflamatuvar sistemi etkileyen bakteriyel komponentler, cevabı modifiye eden genetik ve çevresel faktörler bir yönde, antikorlar, sitokinler, reaktif oksijen radikalleri ve konağa ait mediyatörler diğer yönde değerlendirilebilir (5).

Literatürde, periodontitis ile peri-implantitis patogenezinin benzer olduğunu gösteren çalışmaların yanında (6,7), patogenezinde bazı farklılıklar tespit eden çalışmalar da mevcuttur (8-10). Birçok çalışmada, periodontitis ve peri-implantitis durumlarında kolonize olan bakterilerin benzer olduğu ve her iki durumda da gram negatif anaerobik bakterilerin baskın olduğu gösterilmiştir (11,12). Biyofilme erken dönem cevabın implant çevresinde ve diş çevresinde benzer olduğu (13), periodontitis ve peri-implantitiste benzer oranlarda kemik kaybı gözleendiği (14), hem dişeti hem implant çevresi mukozada madde ve kollajen

kaybının bulunduğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun apikale göç ettiği tespit edilmiştir (15). Fark olarak ise peri-implant mukozada inflamatuvar hücre infiltrasyonunun apikale göçünün dişetine oranla daha fazla olduğu bulunmuştur (15). Periodontitis lezyonu suprakrestal bağ dokusu ile sınırlandırılırken, peri-implantitiste böyle bir mekanizma yoktur. Bağ dokusunun olmayışı nedeniyle peri-implantitiste enfeksiyon kemik iliğine kadar ilerleyebilirken, periodontitiste bu durum görülmez (9,10). Peri-implantitis, ankiloz ve ankiloz olmayan dişlerdeki ligatür ile indüklenen periodontitisle karşılaştırılmış, implantlarda ve ankiloz olan dişlerde belirgin derecede daha fazla osteoklast miktarı ve kemik kaybı görülmüştür. Bu durumun periodontal ligamentin yokluğuna bağlı olabileceği öne sürülmüştür (16).

Hastalığın patogenezinin yanı sıra klinik teşhis ve değerlendirilmesi de son derece önem taşımaktadır. Dental implantların çevresindeki dokuların değerlendirilmesinde, periodontal değerlendirmede kullanılan parametreler ile benzer yöntemler kullanılmaktadır. Periodontitis ve peri-implantitisin teşhisinde genellikle kullanılan bu klinik değerlendirmelerin subjektifliğine karşılık, objektif verilere dayanan teşhis yöntemleri araştırılmaktadır. Tıpta birçok alanda kullanılan biyobelirteç aktivitesi ölçümü periodontolojinin de üzerinde çalıştığı bir konudur. Biyobelirteç biyolojik durumu ortaya koyan, hastalık ve sağlık durumlarını ayırt etmemize yardımcı olan bir göstergedir (17). Hastalık durumlarında biyobelirteç seviyelerindeki değişimin tespiti, hastalığın henüz klinik olarak bulgu vermediği subklinik dönemde teşhis edilebilmesine olanak tanır. Ayrıca patogenezin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olarak, tedavi seçeneklerinin artırılmasını sağlayabilir. Bu amaçlarla dişeti oluğu sıvısı (DOS)'nda biyobelirteçlerin tespiti sık çalışılan bir yöntemdir. DOS serumdan kaynaklanan, diş ve marjinal dişeti arasında yer alan değişken bir içeriğe sahip iltihabi eksudadır (18). DOS ve salya, ağız kaynaklı, invaziv olmayan yöntemlerle toplanabilen, teşhiste ve biyobelirteçlerin aktivitesinin ölçümünde kullanılacak kaynaklardır. Peri-implant bölgedeki inflamatuvar durumun biyokimyasal ve immünolojik olarak değerlendirilmesini sağlayan en önemli parametrelerden biri olan peri-implant oluk sıvısı (PİOS) analizinde ise; dişeti pleksusundaki damarlardan köken alan, osmotik olarak mediate edilen inflamatuvar bir eksuda olan PİOS'un içeriği değerlendirilerek

mevcut iltihabi tablo hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Periodontitisin ve peri-implantitisin teşhisinde DOS veya PİOS'daki biyobelirteçlerin incelenmesi birçok araştırmannın konusu olmuştur (7,19). PİOS'da mineralize doku bileşenlerini (glikozaminoglikanlar, karboksiterminal telopeptidler, nitrik oksit), kemik *turnover* belirteçlerini, iltihabi belirteçleri (prostaglandinler, sitokinler)(20) ve doku yıkım enzimlerini (matriks metalloproteinazlar, proteolitik enzimler, myeloperoksidaz, aspartat aminotransferaz, α -glukronidaz) inceleyen pek çok araştırma bulunmaktadır (21,22).

Dental implant tedavisinin başarısını etkileyen faktörlerden bir tanesi de implantın osseointegrasyonudur. Osseointegrasyon, canlı kemik ile yük taşıyan implant yüzeyi arasında direkt olarak fonksiyonel ve yapısal bağlantının sağlanmasıdır. Osseointegrasyon kemik dokusunda yer alan hücre ve medyatörlerinden etkilenen ve bu elemanların yer aldığı aktif olaylar serisi sonucu oluşan dinamik bir süreçtir. Kemik metabolizmasında görev alan, kemik metabolizmasını etkileyen biyobelirteçler de dental implantların durumu ve peri-implant hastalıklar hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlayabilir. Sklerostin, RANK ligand (RANKL), osteoprotegerin (OPG) ve Apoptosisin tümör nekroze faktör (TNF) ile ilişkili zayıf indükleyicisi (*Tumor necrosis factor related weak inducer of apoptosis*) (TWEAK) kemik metabolizmasında rol oynayan biyobelirteçlerdendir (23, 24).

Sklerostin, Sost geni tarafından kodlanan, sistein bağlı, osteoblast farklılaşma ve fonksiyonunu kontrol ederek, kemik metabolizmasında rol alan Wnt (*Wingless and INT-1*)/ β -katenin sinyal yolağını inhibe eden bir proteindir. Kemik büyümesinin güçlü baskılayıcısıdır (25,26). Sklerostinin, periodontitis ve peri-implantitis durumlarında DOS'ta ve PİOS'ta arttığı gösterilmiştir (27-29). TNF ligand ailesinin bir üyesi olan TWEAK, inflamatuvar kemik remodelasyonunun bir medyatörüdür. TWEAK'in mitojen ile aktive edilen protein kinaz bağlı sklerostin ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. Gingival biyopsilerde TWEAK seviyelerinin incelendiği bir çalışmada, periodontitisli dokuda, sağlıklı dokuya göre belirgin derecede yüksek TWEAK ekspresyonu olduğu görülmüştür (30). TNF ailesinin üyesi olan RANKL ve OPG de kemik remodelasyonunda kilit rol

oyunmaktadır. RANKL, temel olarak osteoklast prekürsör hücreleri, olgun osteoklastlar, dendritik hücreler, fibroblastlar, B- ve T-hücreleri aracılığıyla salgılanmaktadır (31). RANKL homotrimetrik bir protein olarak bulunan ve osteoklast fonksiyonlarını düzenleyen önemli bir faktördür. Osteoklastlar ve osteoprekürsör hücreler (OPG'ler) yüzeyinde eksprese edilen RANK' a bağlanarak osteoklast farklılaşmasını ve aktivasyonunu artırmaktadır (32). Periodontitis ve peri-implantitiste, RANKL ve RANKL inhibitörü OPG oranlarının DOS'daki değişimleri üzerinde duran birçok çalışma mevcuttur (33,34). DOS veya PİOS'da TWEAK seviyelerini inceleyen bir çalışma ve de diş ile implant çevresi sklerostin düzeylerini karşılaştıran bir çalışma literatürde tespit edilememiştir. Diğer yandan, RANKL ile sklerostinin ve OPG'nin sklerostin ile oranlarını periodontitisli hastalarda karşılaştıran araştırmalar bulunmaktadır (27,35), ancak peri-implantitiste bu oranları karşılaştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu verilerden yola çıkarak çalışmamızda, sağlıklı veya peri-implantitisli dental implantların PİOS'unda; sağlıklı ve periodontitisli dişlerin DOS'unda sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG düzeylerinin tespit edilmesi ve bu biyobelirteçlerin hastalık ve sağlık durumlarındaki değerlerinin karşılaştırılması amaçlanmaktadır. İmplant ve dişteki düzeylerin karşılaştırılması, benzer olarak bilinen iki inflamatuvar hastalığın arasındaki olası farkların tespitinde yol gösterici olabilir. Aynı zamanda hastalık ve sağlık durumlarının karşılaştırılması ile patogenezin aydınlatılması ve teşhis ile tedavide kullanılabilecek yeni yöntemlerin araştırılması için yeni bakış açılarının elde edilmesi mümkün olabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodonsiyum ve Periodontal Hastalıklar

Periodonsiyum yani diş çevresi dokuların elemanları; dişeti, periodontal ligament, sement ve kemiktir. Bu ünitenin amacı diş ile alveol kemiğin arasındaki bağlantıyı sağlayarak diş fonksiyonunu devam ettirmektir (36). Diş ve çevresindeki dokular embriyonik dönemde ektomezenşimden köken almaktadırlar. Ektomezenşim kaynaklı dokulardan dental organ, mineyi; dental papil, dentin-pulpa kompleksini; dental folikül ise periodonsiyumun elemanlarını oluşturur (36, 37). Dişeti, alveolar prosesi örten, çiğneyici mukoza elemanıdır. Epitel ve epitelin altında, *lamina propria* adı verilen bağ dokusundan oluşur. Periodontal ligament, dişlerin kökünü saran, sement ile alveol kemiği birbirine bağlayan zengin damarsal ve hücreli yapıya sahip bir bağ dokusudur. Kökün koronal kısmında dişetin lamina propriası ile devamlılık gösterir (36). Sement, dişin kök yüzeyini kaplayan özelleşmiş bir mineralize dokudur. Kemiğin aksine sement, lenf veya kan damarı içermez, inervasyonu yoktur, fizyolojik rezorpsiyon veya remodeling sürecine girmez. Fakat hayat boyu devam eden depozisyon süreci vardır. Yapısında diğer mineralize dokular gibi, organik matriks içerisine gömülü kolajen fibriller bulunmaktadır (36, 38). Demet kemik, alveolar prosesin periodontal ataçmanın yapısına katılan bölümüdür. Kortikal karakterdedir ve temel görevi dişe çiğneme sırasında gelen kuvvetleri dağıtmaktır (36, 39).

Bahsi geçen bu periodontal dokuların inflamatuvar hastalıkları gingivitis veya periodontitis olarak sınıflandırılmaktadır. Bağ dokusu ataçmanı ve kemiğin kaybı olmaksızın dişetinde görülen inflamasyona gingivitis; periodontal ligament, bağ dokusu ataçmanı ve kemik kaybı ile beraber görülen duruma ise periodontitis adı verilir (1). Page ve Schroeder (40) periodontal hastalıkları ‘başlangıç’, ‘erken’, ‘yerleşik’ ve ‘ilerlemiş’ lezyonlar olarak sınıflandırmışlardır. Bu tanımlardan ilk üçü ataçman ve kemik kaybının olmadığı gingivitis dönemini tanımlarken, ilerlemiş lezyonda ataçman kaybı klinik olarak görülebilir hale gelmektedir (41). Bu aşamada durum periodontitis olarak adlandırılmaya başlar.

2.2. Dental İmplantlar ve Peri-implant Hastalıklar

Modern implantoloji, titanyum implantların üretimi ile başlamıştır. 1950’lerde İsveçli anatomi profesörü Branemark, titanyum ile kemik arasındaki kuvveti iletebilecek yakın teması ‘osseointegrasyon’ olarak tanımlamıştır (42). 1965’te, dental implant uygulanan ilk hasta başarı ile tedavi edilmiştir. O günden bu yana dünya çapında milyonlarca hastaya bu temel konsept baz alınarak dental implant tedavisi uygulanmaktadır (43).

Günümüzde en sık yivli, silindirik geometriye sahip implantlar kullanılmaktadır. Mikrogeometriyi değiştirerek, hücrelerin retansiyonunu ve aktivitesini artırmayı amaçlayan, böylece osseointegrasyonu geliştirmeyi hedefleyen ek prosedürler çoğu implantta uygulanmaktadır (44, 45).

Dental implantlar çevresinde gözlenebilen inflamatuvar hastalıklar peri-implant mukositis veya peri-implantitis olarak adlandırılır (Tablo 2.1). Peri-implant mukositis, gingivitise benzer olarak ödem ve kızarıklık gibi inflamasyonun temel bulgularını gösterir (36). İnsanda veya hayvanda deneysel olarak oluşturulan gingivitis veya peri-implant mukositis karşılaştıran çalışmalar, iki durumda da biriken plağın yapısının ve yaygınlığının benzer olduğu ve erken dönemde plak eliminasyonu ile her iki durumda da gerileme gözlemlendiği sonucuna ulaşmışlardır (46,47). Diğer yandan, hayvan modeli ile gerçekleştirilen bir çalışmada uzun dönem plak birikimi sonucu gingival lezyonlarda değişim gözlenmezken, peri-implant mukozada lezyonun daha fazla apikale ilerlediği gösterilmiştir (15).

Peri-implantitis, inflamatuvar lezyona peri-implant kemik kaybının eklendiği tablodur. Dolayısıyla peri-implantitis teşhisi sonlamada kanama gibi mukozal inflamasyon bulgularının yanı sıra, radyografik olarak kemik kaybının saptanması ile konulur. Peri-implantitis ilk aşamada marjinal kemiği etkiler. Hastalığın görüldüğü implantlar değişken zaman periyotları boyunca stabil ve fonksiyonda kalabilirler. İmplant mobilitesi hastalığın son evrelerinde gerçekleşir ve entegrasyonun tam olarak kaybolduğunu gösterir; peri-implantitisde özellikle gözlenen bir semptom değildir (36, 48).

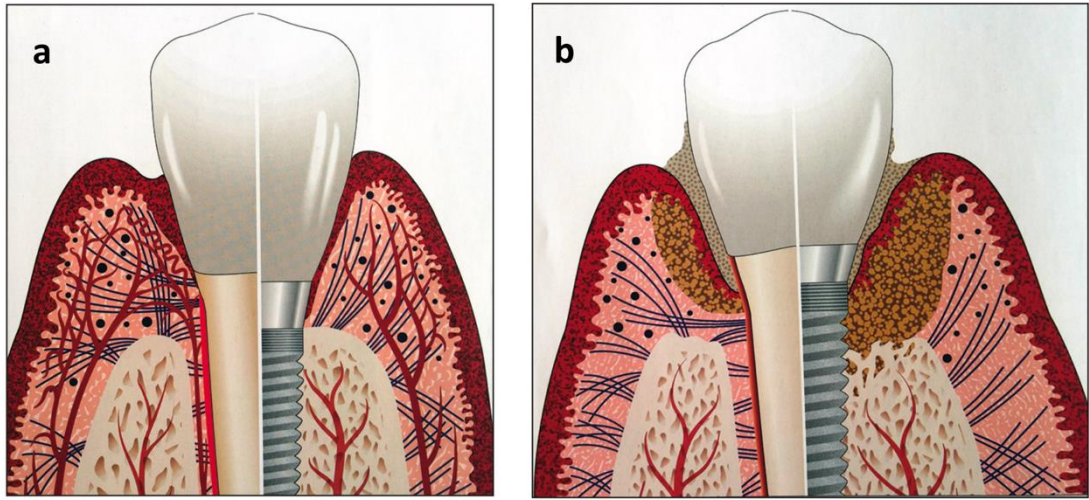
Tablo 2.1. Peri-implant Hastalıklar (49)

	Peri-implant mukositis	Peri-implantitis
Hastalık karakteri (50)	Geri dönüşümlü	Geri dönüşümsüz ve ilerleyici
Peri-implant mukozanın değişimi (50)	İnflamasyonun klinik bulguları: Kızarıklık, ödem ve yumuşak peri-implant mukoza. Tüm özellikler kombine olarak veya ayrı ayrı görülebilir.	İnflamasyonun klinik bulguları: Kızarıklık, ödem ve yumuşak peri-implant mukoza. Tüm özellikler kombine olarak veya ayrı ayrı görülebilir.
Supurasyon(pus, eksuda)(50,51)	Var (+)/Yok (-)	Var (önemli teşhis faktörü)
Sondlamada Kanama(51)	Var (+)Teşhis faktörü Prediktif değeri net değil	Var (+)
Çekilme (51)	Yok	Var (+)/Yok (-)
Mobilite (51)	Yok	Var (+)/Yok (-)
Cep derinliği (51)	Artmış / Artmamış	Artmış (Başlangıç değerine göre, zaman içerisinde)
Radyografik kemik kaybı (50, 51)	Yok (-)	Var (Yivlerin açığa çıkması)
Azalmış osseointegrasyon(50, 51)	Yok (-)	Var (+)

2.2.1. Peri-implant Anatomi

Osseointegrasyon, canlı kemik ve implant yüzeyi arasında oluşan direkt yapısal ve fonksiyonel bağlantı olarak tanımlanır (52). Dental implant ile rehabilitasyonda temel hedef, stabil bir kemik-implant bağlantısının sağlanıp korunmasıdır. Sağlıklı bir osseointegrasyon durumunda bu kemik implant bağlantısı yumuşak dokular tarafından kesintiye uğramaz (53). İmplant yuvasının preparasyonu ve yerleştirilmesi ile gerçekleşen yaralanmayı, kemikte inflamatuvar reaksiyon, kemik rezorpsiyonu, büyüme faktörlerinin salınması, bununla beraber osteoprogenitör hücrelerin bölgeye gelerek osteoblastlara dönüşmesi ve implant etrafında kemik formasyonu takip eder (54). Tüm bu olaylar sonucunda implant kemik ile ankilotik duruma geçer ve osseointegrasyon gerçekleşmiş olur (55).

İmplant çevresi yumuşak doku, dişin çevresindeki gibi bağ dokusu ve onu örten epitelden oluşur. İmplantta da dişte olduğu gibi boyun kısmında bir gingival sulkus, uzun birleşim epiteli ve kemik üzerini örten bağ dokusu tabakası bulunmaktadır. Tüm bu benzerliklere rağmen implantın çevresinde periodontal ligamentin bulunmayışı önemli bir farklılıktır. İmplantın kemikle bağlantısı, dişte olduğu gibi dokulara gömülen kollajen fibriller aracılığı ile değil, direkt olarak sağlanır (56). Periodontal ve peri implant yumuşak dokuları arasında biyokimyasal bir fark bulunamamış olsa da (57), implant çevresinde sementin olmayışı sebebiyle, bağ dokusunun implanta atake olması mümkün olmaz (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. a. Diş – İmplant ve çevre dokuların sağlık durumunda karşılaştırılması b. Periodontitis – Peri-implantitis ve çevre dokuların karşılaştırılması (49).

İmplant çevresi bağ dokusunda lifler implanta belirli ölçüde paralel seyrederek (56, 58). Dişetin damarsal desteği iki farklı kaynaktan sağlanmaktadır. Bunlardan biri suprapariosteal kan damarlarıdır (59). Bunları oral epitelin hemen altındaki bağ dokusu papillerinin kılcıl damarları ve birleşim epitelinin lateralindeki damar pleksusu oluşturur. İkinci kaynak ise periodontal ligamentin damar pleksusudur (59). İmplant çevresindeki dokularda periodontal ligament bulunmadığından damarsal yapılar daha sınırlıdır. Bu durum peri-implant alanda gelişebilecek iltihabi durumlarda önem kazanmaktadır. Damarsal destek sadece suprapariosteal alandan sağlanmaktadır. Suprapariosteal kan damarları dalları ile oral epitelin altındaki kapillerlere ve bariyer epiteline hemen komşu damarlara kaynak

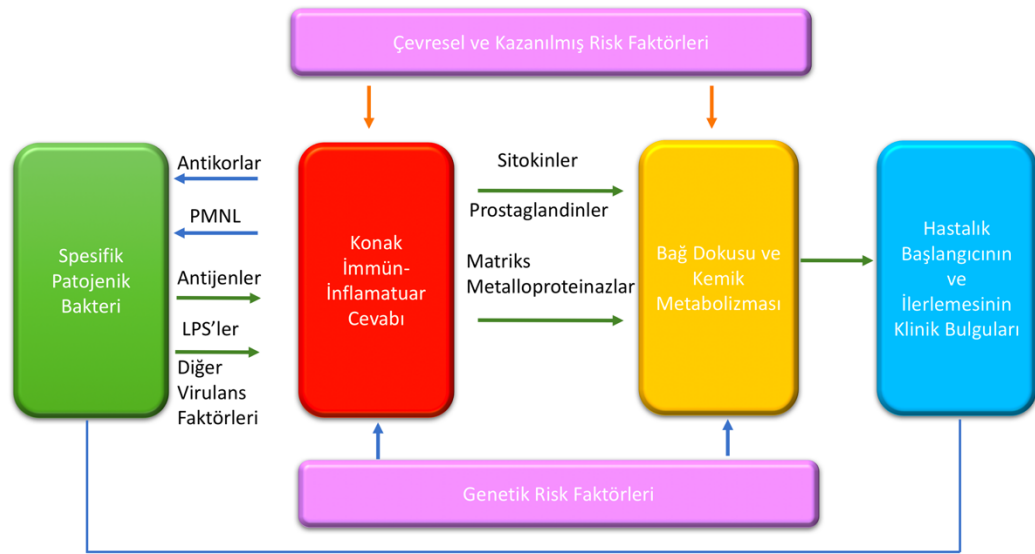
oluşturmaktadır (60). İmplant çevresinde periodontal ligamentin olmayışının klinik yansımalarına bakarsak, prematür okluzal temas durumunda implantın diş gibi gömülemeyişini veya migre olamayışını örnek olarak verebiliriz. Böyle bir durumda kuvveti absorbe eden bir yapı olmadığından kuvvet restorasyon - implant ara yüzüne veya kemik implant ara yüzüne iletilecektir. Bunların yanında dişlerdeki proprioepsiyon özelliğini sağlayan element periodontal ligament olduğu için, implant destekli restorasyonlarda dokunma hassasiyeti azalır ve refleks fonksiyon özelliği ortadan kalkar (61). Bu yüzden implant destekli restorasyonlarda travmaya sebebiyet verebilecek kuvvet oluşma olasılığı daha fazladır.

2.3. Patogenez

2.3.1. Periodontitis Patogenezi

1960'ların ortalarında yapılan insan ve hayvan çalışmaları, gingivitis ve periodontitisin oluşumunda bakterilerin kritik rolünü kanıtlamıştır (62,63). 1970'ler ve 80'lerin başlarında, bakterilerin hastalıkta primer rol oynadığı bilgisi geliştirilerek gram negatif, anaerobik ya da mikroaerofilik bakterilerin periodontitise sebep olduğu bilgisine ulaşılmıştır (64, 65). Sağ sulkusta ilk kolonize olan bakterilerin *Prevotella intermedia* ve *Fusobacterium nucleatum* olduğu, bu bakterilerin kolonize olduğu dönemde sulkus asidik veya nötral karakterdeyken, hastalık ilerledikçe sulkusta asakkarolitik bakterilerin artması ve proteinin degradasyonu sonucu açığa çıkan amonyumun pH'ın 8.0'ın üstüne çıkmasına sebep olduğu Takanashi (11) tarafından ortaya konulmuştur. Artan pH ile birlikte *Porphyromonas gingivalis* gibi aside karşı hassas proteolitik türler de çoğalma şansı bulmaktadırlar (12). Aynı dönemde sağlık ve hastalık durumlarında immünoinflamatuvar cevapların koruyucu ve yıkıcı etkileri tanımlanmış (66, 67) ve polimorfonükleer lökositlerin periodontal harabiyetteki rolü anlaşılmaya başlanmıştır. Aynı zamanda periodontal hastalıktaki doku yıkımına matrismetalloproteinazlar (MMP), interlökin (IL) -1 ve prostaglandinler gibi aktif doku kaynaklı ürünlerin birincil olarak sebep olduğu gösterilmiştir (67). Ayrıca bazı klinik hastalık paternlerinin karakteristik bakteri tipi ve konak cevabı özellikleri taşıdığı daha iyi anlaşılmıştır. Buna örnek olarak lokalize juvenil

periodontitis ve kronik periodontitis arasındaki farklar gösterilebilir (68). Gingivitten periodontitise geçişin gerçekleştiği ‘yerleşik’ veya ‘ilerleyici’ lezyon döneminde plazma hücrelerinin bağ dokusunda baskın olduğu görülmektedir (69). T-hücre lezyonu nispeten stabil olsa da B-hücre/plazma hücresi lezyonu ilerleyici karakter gösterir ve periodontal cep oluşumuna zemin hazırlar. Cep oluşumu, birleşim epitelinin apikale göçüne neden olurken, ülserale hale geçen cep epiteli, bakterilerin invazyonuna izin verir. Bağ dokusunda inflamatuvar sitokinlerin artışı ile hem kemik hem de bağ dokusunda yıkım ilerler (70). Periodontal hastalıkta mikrobiyal birikim ve konağın buna cevabı primer faktör olsa da hastalığın ekspresyonunu etkileyen bazı modifiye edici faktörler bulunmaktadır. Bu hastalığı modifiye edici risk faktörlerinin başında sigara ve diyabet gelmektedir (5) (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Periodontal hastalık modeli (71)

2.3.2. Peri-implantitis Patogenezi

Peri-implantitisin etyolojisi ve patogenezi ile ilgili net bilgi sahibi olamamıza rağmen, yapılan birçok çalışmada periodontitis ve peri-implantitis durumlarında kolonize olan bakterilerin benzer olduğu ve gram negatif anaerobik bakterilerin baskın olduğu gösterilmiştir (72). Ayrıca *Staphylococcus aureus*'un da

peri-implantitisi başlatan önemli bir patojen olabileceği gösterilmiştir (73). Biyofilme erken dönem cevabın implant çevresinde ve diş çevresinde benzer olduğu, iki durumda da 21 günlük incelemede epitelde elastaz⁺ hücrelerde ve bağ dokusundaki T ve B hücrelerinde artış olduğu gösterilmiştir (13). B lenfositler ve plazma hücreleri en çok görülen hücre tipleridir. Peri-implantitis ve periodontitiste temel olarak IL-1, IL-12 ve Tümör Nekroze faktör (TNF)- α gibi belirteçler artış gösterir (74,75).

Biyofilme verilen konak cevabını köpeklerde inceleyen bir çalışma plak birikimini takiben 3. ay sonunda hem dişeti hem implant çevresi mukozada madde ve kollajen kaybını ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun apikale göçünü göstermiştir. Bu apikale göç, peri-implant mukozada dişetine oranla belirgin ölçüde daha fazla bulunmuştur (15). Maymunlarda diş ve implant çevresinde sekiz aylık ligatür ile indüklenen plak akümüasyonu çalışmasında ise kemik kaybı düzeyleri radyograflar ile incelenmiş, diş ve implant çevresinde benzer oranda kemik kaybı olduğu görülmüştür (14). Başka bir hayvan çalışmasında ise, yine maymunlarda ligatür ile indüklenen peri-implantitis, ankiloze ve ankiloze olmayan dişlerdeki ligatür ile indüklenen periodontitisle karşılaştırılmış, implantlarda ve ankiloze olan dişlerde belirgin derecede daha fazla osteoklast miktarı ve kemik kaybı görülmüştür. Bu durumun periodontal ligamentin yokluğuna bağlı olabileceği yorumunda bulunulmuştur (16). Farelerde yapılan bir başka çalışmada, *P.gingivalis* ile enfekte edilen implantlar ve dişler karşılaştırılmış, implant çevresindeki kemik kaybının diş oranla daha fazla olduğu görülmüştür (76) Deneysel olarak peri-implantitis oluşturulan çalışmaların sonuçları, ligatürün çıkarılmasından sonra peri-implantitisteki kemik kaybının ilerlemeye devam ettiğini göstermiştir (9,75). Doğal dişlerin etrafındaki suprakrestal dişeti fiberlerinin oluşturduğu bağ dokusu kapsülünün lezyonu sınırlayıcı etkisi, implant çevresinde görülmez (77). Periodontitis ve peri-implantitiste dokuların immünohistokimyasal ve histolojik olarak karşılaştırıldığı bir çalışmada, 7 mm'yi aşan cep derinliğine sahip diş ve implant bölgelerinden alınan biyopsi örnekleri karşılaştırılmış, peri-implantitis örneklerinde lezyonun en az iki kat daha geniş olduğu, belirgin derecede daha fazla sayıda ve yoğunlukta CD138-CD68 ve MPO pozitif hücrelerin bulunduğu gösterilmiştir (78).

2.4. Kemik Metabolizması ve Düzenleyicileri

Kemik, mineralize organik matriksi ile karakterize özelleşmiş bir bağ dokusudur. İskeletsel gücün devamlılığı ve organların korunmasında, kalsiyum rezervuarı olarak ve bağışıklık hücrelerinin oluşumunda görevleri vardır. Kemik homeostazından sorumlu iki temel hücre tipi osteoblastlar ve osteoklastlardır. Osteoblastlar kemik formasyonundan sorumlu temel hücrelerdir. Organik ekstraselüler matriks sentezler ve mineralizasyonu kontrol ederler. Osteoblastlar daha sonra osteositlere dönüşürler. Osteoblastlar, kendi kendilerine çoğalma yetenekleri olmayan özelleşmiş hücrelerdir. Kemik iliği, endosteum veya periosteumdan gelen kemik iliği hücrelerinin farklılaşması ile oluşurlar. Kemik iliği hücrelerinin osteoblastlara farklılaşması büyüme faktörlerinin etkisi ile gerçekleşir (36). Osteoklastlar ise hematopoetik prekürsör hücrelerden köken alan çok çekirdekli hücrelerdir. Kemik rezorpsiyonunun başlaması ve sürdürülmesinden sorumludurlar. Osteoklast oluşumunun regülasyonu osteoblastlar tarafından regüle edilir. Osteoklastogenez için osteoblastlar tarafından sentezlenen iki temel sitokin makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) ve nükleer faktör kappa B-ligand (RANKL)'dir (79). Matür kemik dokusunda bulunan bir diğer hücre tipi olan osteositler, mineralize kemik matriksi içinde gömülü bulunan ve birbirleriyle iletişim halinde olan hücrelerdir. Birbirleriyle bu iletişimleri sayesinde kan kalsiyum dengesinde rol oynama ve mekanik yüklemeyi hissederek bunu diğer hücrelere iletme becerisine sahiptirler.

Kemik aktif bir remodeling sürecine sahiptir. Osteoklastlar tarafından rezorpsiyon ve osteblastlar tarafından gerçekleşen reformasyon bu sürecin parçalarıdır (80). Remodeling, lokal stimülasyon ve paratiroid hormon (PTH), büyüme hormonu, leptin ve kalsitonin gibi hormonların salınımı ile kontrol edilir (81) Alveolar kemiğin remodelasyonu ortodontik diş hareketi, okluzal kuvvetler ve erüpsiyon sonucunda fizyolojik olarak veya periodontal, periapikal patolojilerin varlığında patolojik olarak gerçekleşebilir. Kalsiyum metabolizması, kemik remodelingi ile ilişkilidir ve temel olarak PTH ve vitamin D ile kontrol edilmektedir (82). Kemiğin stres ve gerinim durumlarındaki fonksiyonel remodelinginde rol oynadığı öne sürülen mekanizmalar ise strese duyarlı kalsiyum kanalları ve

integrinler, prostaglandin E₂ (PGE₂) gibi parakrin mediyatörler, prostasiklin ve nitrit oksittir (83). Bunların yanında bir seks hormonu olan östrojenin de kemik rezorpsiyonunu azaltarak kemik metabolizmasında rol oynadığı bilinmektedir. Rezorpsiyon ve remodelasyonun dengede kalmasını sağlayan birçok faktör vardır. Örneğin *transforming growth factor* β (TGF- β) rezorpsiyon sırasında salgılanan, kemiğin formasyonunda görevli bir mediyatördür. PTH, PGE, fibroblast büyüme faktörü, TGF- β ve RANKL hem rezorpsiyonu hem de formasyonu stimüle edici faktörler olarak gösterilmiştir (82). Rezorpsiyon-formasyon mekanizmasının yönünün belirlenmesinde kalsiyum en önemli faktördür. Fakat kalsiyum eksikliği durumunda gerçekleşen kemik yıkımı rastgele gerçekleşmez. En çok fonksiyon halindeki kemikler en çok korunurlar (84).

2.4.1. Kemik Metabolizmasının Santral Olarak Düzenlenmesi

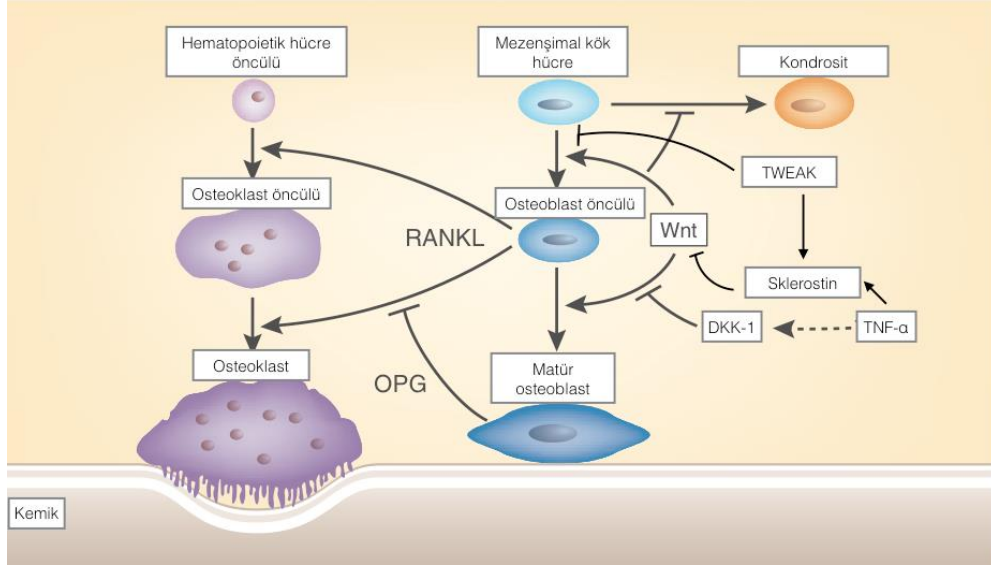
Santral sinir sisteminin kemik metabolizması kontrolünde rol oynayabileceği düşüncesi 2000 yılında, kafa travması sonucu kemik formasyonunda artış görülmesi ile ortaya çıkmıştır. Bununla beraber yapılan çalışmada, leptin eksikliği bulunan farelerde kemik kütlelerinde aşırı artış olduğu görülmüştür (85). Leptin, yağ dokusundan sentezlenen, hipotalamus üzerinden etki göstererek iştahı baskılayan, böylece vücut kütlelerini kontrol etmekte görevli bir mediyatördür. Leptinin kemik üzerindeki anti-osteojenik etkisinin direkt olmadığı, sadece intraserebroventriküler enjeksiyon ile olduğunu ileri süren bazı çalışmalar olduğu gibi hem perifer hem de santral olarak etki göstermekte olduğunu ileri süren çalışmalar da mevcuttur (82,86).

2.4.2. Kemik Metabolizmasının Transkripsiyonel Olarak Düzenlenmesi

İnsan ve hayvanlarda genetik mutasyonlar sonucu olarak ortaya çıkan kemik fenotipine bakıldığında, ostegenez ve kondrogenezde etkili az sayıda transkripsiyonel faktör belirlenebilmiştir. Bunlardan biri *runt-related transcription factor 2* (Runx2)'dir. Runx2-null farede osteoblastların hiç olmadığı, kıkırdağımsı bir iskelet olduğu tespit edilmiştir (87). Osteoblast formasyonunda Runx2'ye ek olarak katkıda bulunan diğer bir transkripsiyonel faktör Osterix'dir. Osterix, kemik

morfojenik protein (BMP)'ine cevap olarak indüklenen, miyoblastlarda bulunan, kemik yapımının güçlü bir stimülatörüdür (88).

Kemik miktarının artmasıyla sonuçlanan genetik hastalıklar vasıtasıyla kemik metabolizmasında yeri olduğu tespit edilen bazı genler de hastalıkların tedavisinde yeni seçenekler sunabilme potansiyeline sahiptir. Bu gruptaki iki gen düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)-reseptör ile ilişkili protein 5 (LRP5) ve sklerostin'dir. Bu genlerin mutasyonundan etkilenmiş bireylerin genel olarak sağlıklı olmaları, bu genlerin doku spesifik görevleri olduğunu düşündürmektedir (82). LRP5, LDL- reseptör ile ilişkili protein 5'i kodlayan genidir. Kromozom 11q13'te G171V'nin tek gen mutasyonundan etkilenmiş tüm bireylerde, başka hiçbir doku etkilenmeksizin yüksek yoğunluklu kemik kitlesi olduğu görülmüştür (89). Aynı gen, otozomal resesif geçiş gösteren osteoporosis pseudoglioma adı verilen başka bir hastalıktan da sorumludur. LRP5 geninin fonksiyonundaki artış yüksek kemik yoğunluğuyla sonuçlanırken, fonksiyonundaki kayıp osteoporozu sebebiyet verir.



Şekil 2.3. Kemik metabolizmasındaki etkileşimler (90)

(DKK-1: *Dickkopf-related protein-1*, TNF- α : Tumor nekroze faktör-alfa, Wnt: *Wingless and INT-1* RANKL: *Receptor activator of nuclear factor kappa-beta ligand*, OPG: *Osteoprotegerin*)

Sklerostin, kromozom 17q12-q21 kromozomunda yer alan bir genidir. Keşfi otozomal resesif bir hastalık olan, yüksek kemik yoğunluğu ile karakterize,

sklerostozisin odağı oluşu ile gerçekleşmiştir. Sklerostin hakkında ilk edinilen bilgilerden biri kemik oluşumunu BMP'leri etkileyerek inhibe ettiği (82).. Daha sonra, sklerostinin kemik oluşumu üzerindeki inhibe edici etkisinin Wnt sinyalizasyonu üzerinden olduğuna dikkat çekilmiştir (91) Wnt sinyalizasyon yolağı ile *Nuclear Factor kappa-beta* (NF-K β) yolakları kendi fonksiyonları gereği birbirleri ile etkileşim içerisinde dirler. Bu etkileşimde, sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG'nin rolü Şekil 2.3'de özetlenmiştir.

2.5. Kemik Metabolizmasında Etkili Bazı Faktörler

2.5.1. Sklerostin

Sklerostozis ve van Buchem hastalığı gibi kemik kütlesinde artışa sebep olan hastalıklar LRP-5, LRP-6 ve Wnt'nin kemik metabolizmasındaki rolüne dikkat çekmiştir. Sklerostin genini inaktive eden mutasyonlar sklerostozisin oluşumuna, etkinliğini azaltan mutasyonlar ise van Buchem hastalığının oluşumuna sebep olur (92). Sklerostozis, ilk defa 1950'lerde Güney Afrika'ya göç etmiş Hollanda kolonilerinde tanımlanmış bir hastalıktır. Sklerostozis ve van Buchem hastalığında endosteal kemikleşmede artış söz konusudur. Bunun sonucu olarak çene ve yüzde distorsiyona sebep olan kemik büyümeleri görülür. Kranial sinirler etkilenecek hastalarda fasiyal paralizi, işitmede ve koku almada kayıplar gerçekleşir. Foramen magnum daralmasına bağlı olarak ani ölümler de tanımlanmıştır (92,93).

Sklerostin mRNA'sı, özellikle embriyonik dönemde birçok dokuda bulunurken sklerostin proteini postnatal dönemde sadece ileri diferansiye olmuş osteosit, mineralize hipertrofik kondrosit ve sementosit gibi mineralize matrikse gömülü hücrelerde sentezlenir (92). Kemik nodülü bulunmayan primer osteojenik kemik kültürlerinde, sklerostin ekspresyonu farklılaşmamış aşamada tespit edilmiş, mineralizasyon ile birlikte artmıştır (23). Hayvan ve insanda yapılan in vivo çalışmalarda, in vitro çalışmalara benzer şekilde, mineralize olmamış kemikte osteositlerin sklerostin salgılamadığını, fakat primer mineralizasyondan hemen sonra hücrelerin sklerostin pozitif duruma geçtikleri görülmüştür (94, 95).

Mineralize kemik içine bulunan osteositler genellikle sklerostin pozitiflerdir. Sklerostin negatif hücreler yüzeye daha yakın olarak konumlanırlar. Osteoklastlar, osteoblastlar ve yüzey hücreleri sklerostin sentezlemezler. Sklerostozis hastalarından alınan kemik biyopsilerinde, osteositlerden sklerostin sentezlenmediği tespit edilmiştir (96). Osteojenik köellürlere eklenen sklerostinin fare ve insan osteoblastik hücre proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu inhibe ettiği, ayrıca sklerostin varlığında osteoblast apoptozisini indüklendiği görölmüştür (96).

Sklerostinin Etki Mekanizması

Sklerostin ekspresyonunun kemik oluşumunu azaltıcı etkisini açıklayan mekanizmalardan biri DAN ailesine ait sekrete glikoproteinlere olan benzerliği üzerindedir. Bu DAN ailesine ait proteinlerden cerberus ve gremlin, BMP antagonistleri olarak fonksiyon görmektedir (97). Sklerostinin BMP ye afinitesi zayıf olsa da etkisini antagonize edici özelliği in vivo ve in vitro olarak gösterilmiştir (96,98,99). Van Bezooijen ve ark (96) tarafından yapılan çalışma, sklerostinin BMP etkisini antagonize etme mekanizmasının klasik BMP antagonistlerinden farklı olduğunu, dolayısıyla yukarıda açıklanan mekanizmanın sklerostinin kemik üzerindeki etkisinin ortaya çıkmasında minör rolü olduğunu ortaya koymuştur.

Sklerostinin LRP5/6 mediyatörlüğündeki Wnt sinyalizasyonunu antagonize etmesi de diğer bir etki mekanizmasıdır. LRP5, kemik formasyonunda önemli rol oynayan Wnt sinyal yolağının koreseptörüdür. Wnt'ler birçok hücresele olayda rol oynayan sekrete sitokinlerdir. Wnt sinyal yolağının kemik doku formasyonu üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır. Wnt proteinleri iki yolu aktive ederler: beta katenin bağımlı kanonik yol ve beta kateninden bağımsız kanonik olmayan yol. Osteoblast diferansiyasyonu kanonik yol üzerinden gerçekleşir. Ayrıca kanonik yol, osteoblastlar üzerinde OPG'yi artırıcı, RANKL'ı azaltıcı etki göstererek osteoklastogenezisi de inhibe eder. Kanonik olmayan yolun aktivasyonu ise RANKL ile indüklenen osteoklast diferansiyasyonunu artırıcı etki gösterir (79). Sklerostinin Wnt sinyalizasyonuna etkisi kanonik yol üzerindedir. Sklerostin LRP5/6 ya bağlanarak Wnt1, Wnt3, Wnt3a, Wnt6 ve Wnt10b ile stimüle edilen

kanonik Wnt yolağını antagonize eder (91). Rezorpsiyona osteoklastlar ve yüzey döşeyici hücreler katılır. Sklerostin eksikliği bulunan hastalarda kemik rezorpsiyonu tam olarak etkilenmemiştir. Sklerostin, mineralizasyonun başlangıcında osteositler tarafından salgılandığında mineralizasyon üzerinde negatif *feedback* etkisi yaparak osteoblastlar tarafından gerçekleşen kemik yapımını sekteye uğratar (94, 96). Osteositler tarafından üretilen ve sekrete edilen sklerostin, kanaliküller aracılığıyla kemik yüzeyine taşınır ve LRP5/6 tarafından kontrol edilen kanonik Wnt sinyal yolağını antagonize eder. Buna ek olarak, farelerde yapılan bir çalışma, sklerostinin osteositlerde Wnt sinyal yolağını antagonize etmesinin, osteoblastlara kemik oluşumunu inhibe edici sinyal gönderilmesine sebep olduğu sonucuna ulaşmıştır (100).

Sklerostin ve Mekanik Yükleme

Kemik mineral densitesindeki, normal sınırlar içerisindeki farklılıklar, SOST ve LRP5 polimorfizmleriyle korele bulunmuştur (101). Ayrıca bu polimorfizmlerin, fiziksel aktivite ve kemik yoğunluğu arasındaki ilişkiyi etkilediği görülmüştür. Yani Wnt sinyalizasyonundaki varyasyonlar kemiğin mekanik yüklemeye adaptasyonunda rol oynamaktadır (92). Osteositler mekanik yüklemeye cevap veren hücrelerdir. Stres karşısında kemik homeostazını sağlamakta görevlidirler. Robling ve ark (102) tarafından yapılan hayvan çalışmasında mekanik yüklemenin osteositlerden sklerostin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Bunun sonucunda kemik formasyonu yükleme karşısında artmaktadır (102) Lin ve ark (103) tarafından, ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise sklerostinin kemiklerde gerçekleşen fonksiyonsuzluk atrofisinde rol oynadığı gösterilmiştir.

Sklerostin Antikorumun Tedavideki Yeri

Sklerostin inhibisyonunun osteoporoz tedavisinde kullanılmasını amaçlayan hayvan çalışmaları, sklerostin monoklonal antikor kullanımının kemik miktarını artırdığı ve kemik kütlesini onardığı sonucuna ulaşmıştır (104). Sklerostin monoklonal antikor inhibitörü olan Romosozumab'ın faz 2 ve faz 3 çalışmaları da bu ajanın kemik yapım belirteçlerinde ve kemik yoğunluğunda belirgin ölçüde artış sağladığını tespit etmişlerdir (105, 106). İlacın faz 3 çalışmaları henüz sona ermiş,

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesinin onayı beklenmektedir. Sklerostin antikor tedavisinin, osteoporozun yanı sıra kemik ile ilişkili diğer hastalıklarda kullanılabilirliğine ilişkin çalışmalar da mevcuttur (107-109). Örneğin, titanyum kalça protezlerinin koroziv debrislerine karşı oluşan inflamatuvar cevap sonucu aseptik kaybı yaygın görülen bir problemdir. Liu ve ark (107) tarafından, fareler üzerinde yapılan bir çalışma, sklerostin antikor tedavisinin, titanyum kalça protezlerinin kaybını engelleyebileceğini ortaya koymuştur. Sklerostin antikor etkinliğini periodontal dokularda inceleyen, yapılmış az sayıda hayvan çalışması mevcuttur (110, 111). Bu çalışmalardan biri olan ve hayvanlarda ligatür ile indüklenen lokalize periodontitis oluşturulmuş defektlerin sklerostin antikor (Scl-ab) tedavisine yanıtın değerlendirildiği bir araştırmada Scl-ab uygulanan deney gruplarında alveol kemiği iyileşmesinin belirgin derecede arttığı görülmüştür. Serum analizleri de, kemik biyobelirteçleri olan osteokalsin ve prokollajen tip I N propeptid (PINP)'in kontrol gruplarına oranla daha yüksek olduğu sonucuna ulaşmıştır (110). Chen ve ark.'nın (111) periodontitis ve osteopeninin bir arada bulunduğu vakalarda Scl-ab etkinliğini test ettiği hayvan çalışmasında, overektomize sıçanlarda ligatür ile indüklenen periodontitis oluşturulmuş, Scl-ab uygulanan gruptaki mineral apozisyonunun belirgin derecede fazla olduğu görülmüştür.

2.5.2. TWEAK

TWEAK, TNF ailesinin bir üyesi olan, TNFSF12 geni tarafından kodlanan multi fonksiyonel bir sitokindir. İlk olarak tanımlandığı bazı tümör hücre dizilerinde apoptozisi indüklemesiyle olmuştur (112). TWEAK geni değişik hücre tiplerince özellikle yaralanma durumlarında eksprese edilmekte ve bu gen 249 aminoasitten oluşan bir tip 2 transmembran glikoproteinini kodlamaktadır. Tip 2 transmembran proteini olarak sentezlenmekte daha sonra furin tarafından parçalanarak çözünür formuna dönüşmektedir. Wiley ve ark (113) TWEAK'in fizyolojik afiniteye sahip reseptörü olarak *fibroblast growth factor-inducible* 14 (Fn14)'ü tanımlamışlardır. TWEAK mRNA'sı; kalp, beyin, kas ve pankreas gibi majör organlarda daha fazla sentezlenir. İmmün sistemle ilişkili dalak, lenf nodları ve timus gibi dokularda da TWEAK varlığı gözlenir (112). İnflamasyon sırasında TWEAK'in temel kaynağı

monosit/makrofaj ailesidir. Ayrıca insan primer osteoblast dizisi kullanılarak yapılan in vitro bir çalışmada, immünohistokimyasal analizde TWEAK'ın intraselüler olarak boyandığı görülmüştür (114). Çalışmaların raporlarına göre TWEAK inflamatuvar cevaba katılan çeşitli moleküllerin ekspresyonunu artırır (115, 116). Ayrıca TWEAK stimülasyonunun insan tümör hücre dizilerinde, fibroblastlarda ve astrositerde IL-8 sekresyonunu artırdığı görülmüştür. Astrosit hücre kültürlerine eklenen TWEAK'ın IL-6 sekresyonunu ve intraselüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1)'in ekspresyonunu artırdığı incelenmiştir (112).

TWEAK'in İnflamasyondaki Rolü

Sağlık durumunda dokulardaki TWEAK reseptörü olan Fn14'ün ekspresyonu oldukça düşüktür. Fn14 seviyeleri stres veya yaralanma durumunda artış gösterir. TWEAK'ın santral sinir sistemi, karaciğer, kan damarları, bağırsaklar, kas sistemi, kalp ve böbrek yaralanmalarında rol oynama potansiyeli mevcuttur (117-119). Dohi ve ark (120) gastrointestinal sistemin inflamatuvar bir hastalığı olan ülseratif kolit durumunda, TWEAK ve Fn14 transkriptlerinin dikkate değer şekilde arttığını göstermişlerdir (120). TWEAK sinyalizasyonunu böbrekte podositlerin ve glomerüler endotel hücrelerin bariyer fonksiyonunu direkt olarak tahrip ettiği, Xia ve ark (121) tarafından Fn14 knockout fareler ile yapılan çalışma ile gösterilmiştir. Ayrıca günümüze kadar yapılan birçok çalışma, lupus (SLE), romatoid artrit ve multiple skleroz gibi otoimmün ve kronik inflamatuvar hastalıklarda da belirgin TWEAK/Fn14 artışını ortaya koymuştur (122). SLE hastalarında serum TWEAK seviyeleri, sağlıklı kontrollere göre belirgin derecede yüksek bulunmuştur. Vaskülitli bulunan SLE hastalarında TWEAK seviyesi, bulunmayan SLE hastalarından daha yüksek bulunmuştur. Aynı durum baş ağrısı semptomu görülen ve görülmeyen SLE hastalarının karşılaştırılmasında da tespit edilmiştir (123). Lupus nefriti görülen hastalarda, periferik kan mononükleer hücrelerindeki TWEAK ekspresyonu, böbrek tutulumu olmayan hastalardan belirgin derecede yüksek bulunmuştur (124). Romatoid artrit hastalarından alınan kan ve sinoviyal sıvı örnekleri, osteoartrit hastaları ile kıyaslanmış ve TWEAK, Fn14, RANKL ve IL-17 oranlarının romatoid artrit hastalarında belirgin derecede artış gösterdiği tespit edilmiştir. TWEAK oranları RANKL seviyeleri ile ilişkilidir

(24). Chicheportiche ve ark.(125), TWEAK uygulamasının insan dermal fibroblastlarında proteolitik bir enzim olan MMP-1 ve proinflamatuvar proteinlerden PGE₂, IL-6, IL-8 üretimini, RANTES kemokini ile artırdığını göstermişlerdir. İnsan keratinositleri ile in vitro yapılan bir çalışmada ise TWEAK'ın güçlü bir kemoatraktan olan RANTES üretimini artırdığı ve bu durumun TGF- β 1 tarafından simultane olarak onarıldığı gösterilmiştir (126).

TWEAK'in Kemik Üzerine Etkisi

Park ve ark (24) tarafından farelerde yapılan çalışmanın sonuçlarına göre TWEAK, romatoid artritte fibroblast benzeri sinoviyositlerde RANKL ekspresyonunu artırarak kemik kaybına sebep olmaktadır (24). Polek ve ark (127)'nin yaptığı çalışmada, TWEAK'ın Fn14'den bağımsız bir şekilde, farelerde monosit makrofajlarını multinükleer, fonksiyonel osteoklastlara dönüştürdüğü gösterilmiştir. Bunlar gibi çalışmalar TWEAK'ın kemik biyolojisi üzerindeki etkisini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte ne TWEAK (128) ne Fn14(129) eksikliği bulunan farelerde iskeletsel anomalilerin gözlenmiyor oluşu, bunların kemik metabolizması üzerine etkilerinin inflamasyon ile ilişkili olduğu fikrini desteklemektedir. İnflamasyon varlığında kemik kaybına sebep olan birçok faktör bulunmaktadır. Örneğin, inflamasyon ve kemik ilişkisini inceleyen çalışmalar, inflamatuvar sitokinlerin ve hücrel sinyal iletim yollarının osteoklast ve osteoblast metabolizmasını etkileyerek osteoporozun gelişimine katkıda bulunduğunu göstermiştir. TNF α , IL-6, IL-17 ve MMP 3 gibi inflamasyonun klasik mediyatörlerinin gen ekspresyonlarını veya RANK/RANKL/OPG yolağı ile NF-k β sinyalizasyon yolu üzerinden katabolik cevabı aktive ettiği ortaya konulmuştur (130). TWEAK'ın immatür insan osteoblastları (STRO-1) üzerindeki etkisini in vitro olarak inceleyen çalışmada, TWEAK uygulamasının osteoblastlarda RANKL ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (131). TWEAK'ın osteoblast aktivitesi ve bu aktivitesi sırasında TNF- α ile etkileşimini test eden başka bir çalışmada ise TWEAK'ın tek başına veya TNF- α ile beraber mitojen aktiviflenmiş protein kinaz (MAPK) bağımlı sklerostin ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (114). Aynı çalışmada, TNF'in kemik mineralizasyonunu artırıcı etkisinin, TWEAK tarafından doza bağımlı bir biçimde antagonize edildiği gösterilmiştir. Bu çalışmaların

sonuçları TWEAK'in kemik katabolizmasında rolü olduğu konusunda hemfikir olmaktadır (130, 131). Bu rolün mekanizmasının anlaşılması için devam eden çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Periodontal Hastalıklarda TWEAK

Gingival dokularda TWEAK ekspresyonunu test eden ilk çalışma 2006'da Hosokawa ve ark (116) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada periodontitisli ve sağlıklı dokulardan alınan gingival doku örnekleri immünohistokimyasal olarak karşılaştırılmış, sağlıklı dokularda TWEAK ve Fn14 oranlarının periodontitis bulunan bölgeden alınan dokulara göre belirgin derecede az olduğu tespit edilmiştir. Bu dokularda TWEAK mononükleer hücreler ve makrofajlar tarafından eksprese edilmektedir (116). TWEAK'in periodontal hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceği düşüncesi ile IL-8 üretimindeki rolü de bu çalışmada araştırılmış ve dişeti fibroblastlarında TWEAK'in IL-8 üretimini doza bağımlı olarak artırdığı gösterilmiştir. Hosokawa ve ark (116) tarafından yapılan çalışmada ayrıca TWEAK'in, IL-1 β ve TGF- β 1 tarafından indüklenen IL-8 sentezini de doza bağımlı olarak artırdığı gösterilmiştir. TWEAK'in anjiyogenezise katkıda bulunduğu bilgisinden yola çıkılarak insan dişeti fibroblastlarında VEGF üretimine etkisine bakıldığında, TWEAK'in damarsal endotelial büyüme faktörü (VEGF) üretimini kısmen indüklediği fakat IL-1 β ve TGF- β 1 tarafından indüklenen VEGF üretimine doza bağımlı şekilde etki ettiği gösterilmiştir. Yani dişetinde TWEAK, IL-1 β ve TGF β 1 ile VEGF için sinerjistik etki göstermektedir (116). İnsan dişeti fibroblastlarında, TWEAK'in adezyon moleküllerinden ICAM-1 ve damarsal hücre adezyon molekülü (VCAM)-1 ekspresyonu üzerindeki etkisi incelendiğinde, ikisinin de ekspresyonunun TWEAK'den doza bağımlı şekilde etkilendiği bulunmuştur. Bu durum VCAM-1 için çok daha belirgindir. Ayrıca TGF- β 1, ICAM-1 ekspresyonunda TWEAK ile sinerjistik etki gösterirken, TWEAK tarafından indüklenen VCAM-1 ekspresyonu üzerinde inhibe edici etki göstermektedir. Yine sağlıklı ve periodontal hastalıklı dişetinden alınan biyopsi örneklerinin incelendiği başka bir çalışmada, TWEAK ve Fn 14 seviyeleri, periodontitisli dokularda, sağlıklı kontrol grubundan alınan örneklerle oranla belirgin derecede fazla bulunmuştur. Periodontitisli dokularda TWEAK ve Fn

14'ün temel olarak mononükleer lökositler, damar duvarını döşeyen hücreler, fibroblast olduğu düşünülen yassı hücreler ve multinükleer hücreler tarafından eksprese edildiği, inflamasyon ve kemik kaybı ile TWEAK/Fn14 oranları arasında belirli derecede korelasyon olduğu, fakat cep derinliği ile bu oranlar arasında korelasyon görülmediği de bu çalışma sonucunda belirtilmiştir (30).

TWEAK antikorumun tedavideki yeri

TWEAK/Fn14 sinyal yolağının bloklanması ile osteoklast diferansiyasyonunun direkt olarak baskılanabileceğini in vitro olarak gösteren birçok çalışma mevcuttur (115, 132). Bununla beraber TWEAK'e yönelik terapötik stratejilerin etkili olabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır. Hedeflenen bu terapötik etkinin TWEAK ve Fn14'e yönelik antikolar ile sağlanabileceği gösterilmiştir (24). Farelerde kollajen ile indüklenen artrit modelinde TWEAK inhibisyonunun anti inflamatuvar ve anti anjiyojenik etki gösterdiği bulunmuştur (133). TWEAK'i hedef alan nötralize edici monoklonal antikor RG7212, solid tümörlerin büyümesini inhibe edebilir. Farelerde yapılan, RG7212 aracılığı ile TWEAK blokajı yapılan bir çalışma bu yönde sonuç vermiştir (134) Faz 1 farmakolojik çalışmalar, RG7212'nin sistemik uygulamada iyi tolere edilebilen ve olumlu farmakokinetik özellikleri olan bir ajan olabileceğini (135) ayrıca Fn 14'ü bloklayan monoklonal antikor BIIB023'ün romatoid artrit tedavisinde kullanılabilecek makul ölçüde güvenli bir ajan olabileceğini göstermiştir (136).

TWEAK'in Biyobelirteç Olarak Kullanılması

TWEAK'in SLE, romatoid artrit ve multiple skleroz gibi kronik inflamatuvar hastalıkların bulunduğu bireylerden elde edilen doku ve biyolojik sıvı örneklerinde bulunmuş olması, biyobelirteç olarak kullanımının umut vadettiğini düşündürmektedir. Örneğin lupus nefritinde teşhiste kullanılmak üzere tanımlanmış üriner TWEAK Schwartz ve ark (137) tarafından tanımlanmıştır. Bu biyobelirteç SLE nefriti ve diğer renal hastalıkların teşhiste ayrılmasında yardımcıdır. Otoimmün ve kronik inflamatuvar hastalıklar, remisyon dönemlerini takip eden alevlenme periyotları ile ilerleme gösterir. Kronik periodontitisin de

ilerleme paterni bu şekildedir. TWEAK'in, lupus nefritinde hastalık aktivitesi ile korele bir seyir gösterdiği görülmüştür (137).

Serum TWEAK oranlarının romatoid artritte artış gösterdiği ilk defa Park ve ark. tarafından gösterilmiştir (122). Aktif ve inaktif romatoid artrit hastalarının sinoviyal sıvı örneklerinin sağlıklı hastalarla, immünohistokimyasal analizle karşılaştırılması sonucu, romatoid artrit grubunda TWEAK oranlarının belirgin derecede artmış olduğu gösterilmiştir (131). Bu çalışmalar, TWEAK'in, inflamatuvar hastalıkların teşhisinde önemli rol oynayabileceğine işaret etmektedir.

2.5.3. RANKL-RANK- OPG

RANKL, TNF ailesinin bir üyesi olup, insan 13q14 kromozomunda yer alan tümör nekroze faktör üst ailesi (TNFSF)-11 geni tarafından kodlanan bir tip 2 transmembran proteindir. RANKL, osteoblastlar, fibroblastlar veya aktive T ve B lenfositlerden membran bağlı veya serbest ligand olarak sentezlenir. RANKL, osteoklast öncülleri (pre osteoklast) üzerinde yer alan reseptörü RANK'a bağlandığında, pre- osteoklastların matür osteoklastlara dönüşmesini sağlar (138). Soluble RANKL'in osteoklastogenezise aracılık etmede, membran bağlı formuna göre daha az etkili olduğu belirtilmiştir (139). RANKL sentezi birçok faktör tarafından indüklenmektedir. Bu faktörlerden günümüze kadar tanımlananlardan bazıları glukokortikoidler, vitamin D3, IL-1, TNF α , TGF- β , bakteri lipopolisakkaritleri, TWEAK ve Wnt ligandlarıdır (79, 140). RANK mesajı timus, karaciğer, kolon, meme bezleri, prostat, pankreas, kemik iliği, kalp, akciğer, beyin, iskelet kası, böbrek, karaciğer ve deride tespit edilmiştir. RANK, özellikle osteoklast prekürsörü hücrelerde M-CSF tarafından güçlü şekilde stimüle edilir (141).

RANKL'in aktivitesi, çözünen serbest reseptör OPG'nin RANKL'a bağlanmasıyla engellenir. OPG temel olarak kemik iliği stromal hücreleri tarafından eksprese edilir. Fakat B lenfositlerden, dendritik hücrelerden ve foliküler dendritik hücrelerden de indüklenebilir. OPG ekspresyonu kemik homeostazında etkili birçok faktör tarafından pozitif (örn. TGF- β , IL-1, TNF, östrojen, Wnt ligandları) veya negatif (örn. PGE₂ ve glukokortikoidler) regüle edilebilir. Primer

olarak tuzak reseptör işlevi gören OPG, reseptör ve ligandı arasındaki etkileşimi hedef alır. OPG'nin yüksek afiniteli partneri RANKL'dır. Bununla birlikte OPG, TNFSF üyesi ve pro-apoptotik faktör olan tümör nekroze faktör ilişkili apoptozis indükleyici ligand (*Tumor Necrosis Factor -Related Apoptosis-Inducing Ligand*) (TRAIL)'a düşük afiniteyle bağlanır. İn vitro çalışmaların sonuçlarına göre OPG-TRAIL bağlantısı tümör hücrelerinde apoptozis ile ilişkili olabilir (142).

RANKL-RANK-OPG sistemi ilk olarak 1990'lı yılların sonlarında, immünolojik olaylardaki rolü, özellikle dendritik hücreler üzerindeki etkileri sebebiyle tespit edilmiştir (143). Bu sistemin osteoklastlar aracılığı ile kemik metabolizması üzerindeki rolü, en az immün sistemdeki rolü kadar önemlidir. RANKL-RANK sinyalizasyonu çeşitli organlarda hücre diferansiyasyonu sürecinde epitelyal dokuların gelişiminde görev almaktadır. Mikrofold hücreler (M hücreleri), bağırsak epitelinin yaklaşık %10'unu oluşturan, mukozal immütede görevli hücrelerdir. RANKL eksikliği bulunan farelerde, dışarıdan RANKL verilmediği sürece M hücrelerinin oluşmadığı gösterilmiştir (144).

RANKL-RANK-OPG Sisteminin Kemik Homeostazındaki Rolü

Minimal in vitro şartlarda dahi RANKL-RANK sinyalizasyonu osteoklast oluşumunda güçlü bir indükleyicidir (145). Osteoklast prekürsörleri büyüme için koloni stimüle edici faktör M-CSF'ye ve RANK faktörleri c-fos, NFATc1/NFAT2 ve NF-kB üyeleri p50 ve p52 osteoklast oluşumunda görev alırlar (140). Bu faktörlerden herhangi birinin eksik olduğu farelerde osteopetrozis, yani kemiklerin kalınlaşması görülmektedir. RANKL-RANK sinyalizasyonu matür osteoklastların kemik rezorbe edici fonksiyonları sırasında da önemli role sahiptir. Bu sinyalizasyonunun olmadığı durumlarda intramembranöz ve encondriyal kemikleşme gerçekleşir fakat kemik remodelasyonu büyük ölçüde azalmıştır. Osteositler mekanik strese cevap olarak RANKL üretirler (146). Ek olarak, IL-1, IL-6 ve IL-11'in osteoporotik etkilerini osteblastlardan RANKL sekresyonunu indükleyerek gerçekleştirdikleri düşünülmektedir. TNF α sadece osteoklastlar üzerinde direkt etki ile değil, aynı zamanda stromal hücrelerden RANKL ekspresyonunu indükleyerek osteoklastogenezise neden olur (147). RANKL'ın tuzak reseptörü olan OPG, in vitro ortamda osteoklastogenezisi inhibe etme

kapasitesine sahiptir. OPG transgenik farelerde eksik sentezlendiğinde osteoklast sayısı artmakta ve osteoporoz görülmektedir (148). RANKL'in kemik metabolizması üzerindeki etkisini modifiye ederek osteoporozu tedavi etmeye yönelik çalışmalar mevcuttur. Anti-RANKL antikoru olan denosumab bu bağlamda umut vadetmektedir (149).

RANKL-RANK-OPG Sisteminin İmmünitedeki Rolü

Literatürdeki immünite ile ilgili çalışmalar, T hücreleri tarafından sentezlenen RANKL'in, dendritik hücrelerin hayatta kalımını ve fonksiyonunu artırdığını göstermiştir (150). Ortak kaynaktan köken alan, kemik ve immün sistemle ilgili ortak sitokinlerin varlığı, bu sistemlerin anahtar düzenleyicilerini anlamak açısından osteoimmünoloji adı verilen yeni bir dal ortaya çıkmasına sebep olmuştur (140). Periodontal hastalıklar, romatoid artrit, osteoporoz, osteoartrit, multiple myelom ve metastatik kemik tümörleri gibi kemik yıkımı ile görülen hastalıklar osteoimmünoloji ile ilişkili hastalıklardır (151). Bu örnekler arasında en çok çalışılmış olan romatoid artrit; fakat RANKL-RANK-OPG denetimindeki patolojik kemik-immün hücre etkileşimini gösteren diğer hastalıklarda da mekanizmalar benzerdir (152). Romatoid artritli hastaların sinoviyumlarında RANKL yüksek miktarda bulunur ve romatoid artrit sebepli kemik kaybından büyük oranda sorumludur. Yapılan araştırmalar ile Th17 yardımcı T hücrelerinin IL-17, IL-1, TNF α ve IL-6 üreterek sinoviyum fibroblastlarından RANKL ekspresyonunu indüklediği sonucuna varılmıştır (152). Başka bir çalışmada RANKL'in kemik-immün hücre patolojilerindeki tek rolünün osteoklast diferansiyasyonu ile ilgili olmadığı ortaya konulmuştur (153). Bu çalışmada RANKL eksprese eden Th17 hücrelerinin matür fakat rezorptif olmayan osteoklastlarda, rezorptif fonksiyonu indüklediği gösterilmiştir. Yani Th17 ile stimüle edilen kemik rezorpsiyonu osteoklast diferansiyasyonunu artırarak değil, fonksiyonunu artırarak gerçekleşebilir düşüncesi ortaya konulmaktadır (153). Bunların yanısıra immün cevap ve RANKL ilişkisine, inflame deride RANKL sentezleyen keratinositlerin epidermal dendritik hücreleri tetiklemesi (154), tip 2 diyabet riski ile serum RANKL oranlarının korele oluşu(155) gibi çeşitli bir çok çalışmanın sonuçları örnek olarak verilebilir.

Klinik Periodontolojide RANKL-RANK-OPG sisteminin yeri

Fizyolojik durumlarda periodonsiyumda, RANKL osteoblastlar ve periodontal ligament hücreleri gibi mezenşimal hücreler tarafından üretilir (156). Sağlık durumunda RANKL ekspresyonu okluzal veya ortodontik kuvvetlere cevap olarak (157) veya diş erüpsiyonu sırasında (158) gerçekleşir. Yine sağlıklı periodonsiyumda OPG, periodontal bağ dokusu hücrelerinden ve periodontal endotelial hücrelerden salgılanır (80,159). Periodontal hastalık durumunda RANKL'ın kaynağı, Th1, Th17 hücreleri ve B hücreleridir (160, 161). Ayrıca bakteriyal uyarı durumunda tüm mezenşimal hücreler RANKL sentezi yapabilmektedir (162). Periodontal hastalık ve sağlık durumlarında OPG aynı hücrelerden sentezlenir (80). Periodontitisten etkilenmiş ve sağlıklı dişeti dokularını immünohistokimyasal olarak karşılaştıran çalışmalar hastalıklı dokularda belirgin derecede daha yüksek RANKL ve daha düşük OPG düzeyleri olduğunu tespit etmişlerdir (159,163). Dişeti biyopsilerinde qPCR kullanılarak RANKL ve OPG transkriptlerini ölçen çalışmalara göre sağlıklı dokuda RANKL ekspresyonu %0-40, gingivite %80, kronik periodontitiste %54-100, agresif periodontitiste ise %75-100 oranlarında bulunmuştur (164,165). RANKL, tespit edilebildiğinde kronik periodontitiste, sağlıklı duruma göre 2.7-15.8 kat daha yüksek bulunmaktadır (166,167). Ayrıca OPG düzeylerinin karşılaştırılması da sağlık durumunda, hastalık durumuna göre 0.2-16 kat daha fazla OPG olduğunu göstermiştir (165,167). Literatürde RANKL/OPG oranını periodontitiste sağlıklı duruma göre yüksek bulan çalışmaların yanı sıra periodontitis ve sağlık durumlarında bu oranı benzer bulan çalışmalar da vardır (165,168).

DOS'ta RANKL ve OPG'yi ELISA ile tespit eden ilk çalışma Mogi ve ark. tarafından yapılmıştır (169). Bu çalışmada RANKL sağlıklı hastaların 1/28'inde tespit edilirken, kronik periodontitis hastalarının tamamında tespit edilmiştir. Fakat hastalığın yaygınlığı ile RANKL konantrasyonları arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir. Hafif şiddette periodontitisi olan hastalarda daha yüksek değerler bulunurken, orta derece ve yaygın periodontitis görülen hastalarda daha düşük değerler tespit edilmiştir. OPG ise sağlık durumunda yüksek oranda tespit edilirken, kronik periodontitis varken, hastalığın yaygınlığından bağımsız olarak üç veya

dörtte bir oranında daha düşüktür (169). Daha sonra yapılan, DOS'ta RANKL düzeyini araştıran diğer çalışmalar da kronik periodontitiste RANKL'ın sağlıklı periodonsiyuma oranla daha yüksek olduğu sonucuna ulaşmıştır (19,170). RANKL/OPG oranı göz önüne alındığında sağlıklıya göre hem kronik periodontitiste hem de agresif periodontitiste bu oranda artış vardır fakat iki periodontitis grubu arasında fark bulunamamıştır. Bu durumda RANKL/OPG oranının periodontitis varlığını belirlemede iyi bir gösterge olabileceği sonucuna varılabilir (171).

RANKL veya RANKL/OPG oranının hastalık yaygınlığı ile ilişkisi açısından çalışmalar arasında tutarsızlık mevcuttur. Negatif (169) veya pozitif (172) korelasyon gösterdiğini ya da hiç korelasyon göstermediğini (170) vurgulayan çalışmalar mevcuttur. Bu verilere göre DOS'ta RANKL/OPG oranı periodontal kemik yıkımının bir biyobelirteci olmakla birlikte, periodontal inflamasyonun "klasik" bir belirteci olamaz (80). İlerleyici doku yıkımı, tolerans metodu ile değerlendirilir. Buna göre, takip eden 2 ay içerisinde 2mm'den fazla ataçman kaybı görülen bölgeler, aktif yıkım sürecindedir (173). Bu yaklaşımı esas alan az sayıda çalışma, aktif kronik periodontitiste RANKL ekspresyonunun DOS'ta, inaktif hastalık olan bölgelere göre artmış olduğunu göstermiştir (172, 174). Bu çalışmalar OPG üzerine araştırma yapmamış olduğu için RANKL/OPG oranının aktif periodontal hastalık dönemindeki değişimini gösteren veri sunamamaktadırlar.

Periodontal tedavinin RANKL/OPG oranı üzerine etkisi çalışmalarda incelenmiştir. Buna göre, Buduneli ve ark (175) tarafından yapılan bir çalışmada, başlangıç periodontal tedavisinden sonra RANKL oranında bir değişim gözlenmezken, OPG'de artış görülmüştür. Tedavinin etkisinin 4 aylık takip periyodunda inceleyen başka bir çalışmada, klinik parametreler iyileşse dahi RANKL/OPG oranının tedaviden etkilenmediği görülmüştür (176) Sonuç olarak RANKL/OPG oranı periodontitisin teşhisinde iyi bir gösterge olduğu ancak tedavi sonucunu incelemeye iyi bir gösterge olmadığı yorumu yapılabilir.

2.6. Periodontitiste ve Peri-implantitisin Teşhisinde Kullanılan Yöntemler

2.6.1. Klinik Teşhis Yöntemleri

Periodontal ve peri-implant hastalıkların teşhisinde en sık klinik ölçüm yöntemlerinden faydalanılır. Kullanılan en yaygın teşhis aracı periodontal sondur (177).

Teşhis amacıyla değerlendirilen parametreler: (178)

- Doku rengi
- Doku konturu
- Sondlamada kanama
- Dişeti çekilmesinin derecesi
- Sondlama derinliği ve ataçman seviyesi
- Supurasyon varlığı
- Mobilite
- Furkasyon tutulumunun varlığı ve derecesi
- Radyografik olarak görülen kemik kaybının varlığıdır.

Ataçman kaybı yokken, dişeti ile diş arasında, diş çevresinde yaklaşık 2 mm; kemik kaybı yokken implant çevresinde yaklaşık 3-4 mm olarak sondlanan dişeti sulkusu veya peri implant sulkus, periodontitis veya peri-implantitis durumunda derinleşir. Periodontitisin teşhisinde, inflamatuvar değişiklikler ve yıkım (sondlama derinliğinin artışı ile beraber) değerlendirilir. Radyograflar sekelin boyutunu değerlendirmede yardımcı araçlardır. Peri-implantitiste ise, sondlama derinliği teşhise diş çevresindeki kadar yardımcı olmaz. Çünkü implant çevresinde bağ dokusu ataçmanın olmayışı nedeniyle sondun ucu kemik sınırına kadar ilerleyebilir. Diğer bir sebep ise sondlama derinliğinde implantın konumunun da etkisinin olmasıdır. Bu yüzden peri-implantitis değerlendirilirken başlangıç sondlama derinliği ile karşılaştırılmalıdır (72). Yine de 6mm 'den derin sondlanan peri-implant sulkus, patolojik kabul edilir (179). Peri-implantitisin teşhisinde,

radyografda görülen kemik kaybı önemlidir. Klinik ölçümlerin subjektifliğine karşılık, daha ileri yöntemler teşhiste kullanılmak üzere çalışılmıştır.

2.6.2. İleri Teşhis Yöntemleri

İleri teşhis yöntemlerinde otomatik sondlar, rezonans frekans analizi, periotest kullanımı, ısı ölçümleri ve hasta başı teşhis kitleri gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır (180, 181). *Florida probe*, *Inteprobe*, *Toronto probe* ve *Alabama probe* gibi otomatize edilmiş sondlar, sondlama kuvvetinin ayarlanmasına olanak vererek daha objektif ölçümlere olanak tanımaktadırlar (180,182). *Rezonans frekans analizi*, kemik ile implant ara yüzeyinin sertliğini değerlendiren bir teşhis yöntemidir. Bu teknikte, yerleştirilmiş implanta bir transformatör bağlanır. İmplanta başka bir cihaz tarafından elektromanyetik dalga verilir ve implantın eğme kuvvetlerine direnci tespit edilir. Elde edilen değerler 1 ile 100 arasında *implant stability quotient* birimi ile kayıt edilir (183). Rezonans frekans analizinin, implant kayıp riskinin değerlendirilmesi için kullanımı düşünülmüş fakat bu yöntemin teşhiste kullanımı için yeterli kanıt bulunamamıştır (184). *Damping capacity analysis*, periodontal ligamentin sıkışma kapasitesini ölçmek üzere tasarlanmış bir yöntemdir. Günümüzde implantların stabilitesini de ölçmek için kullanılmaktadır. Metal parça ile implanta 4 saniyede 16 kez perküsyon uygulayarak çalışır ve elde edilen değerler “Periotest” birimi ile kayıt edilir (178). Isı ölçümü ile teşhis yönteminde ise *PerioTemp probe* kullanılarak subgingival sıcaklık ölçümü amaçlanmaktadır. Mantığı hastalıklı bölgede sıcaklığın sağlıklı bölgeye göre ortalama 0.65° C daha fazla olmasına dayanır (185). *Laser Doppler Flowmetry* ile dişeti veya sulkusun kan akımı ölçülerek teşhis konulması amaçlanmaktadır. İnflame bölgelerde kan akımının arttığı gösterilmiştir (181). Hasta başı teşhis kitlerinin ortaya çıkışı 1990’lı yıllara dayanmaktadır. Bunların çalışma prensipleri fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve immünolojik metodolojilere dayanır. Mevcut olan test kitleri, enzim testleri veya DNA/RNA probe’ları olmak üzere bakteriyel testlerdir (177). Yıkıcı hastalıklar erken dönemde teşhis edildiğinde daha az girişimsel, kısa süreli, dolayısıyla maliyeti düşük tedaviler ile başarı sağlanabilmektedir. Hasta başı testlerin önemi bu noktada ortaya çıkmaktadır. Periodontal hastalıklar için kullanılabilecek testlerde tükürük, serum, subgingival

plak, doku biyopsileri ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) potansiyel olarak kullanılabilir kaynaklardır. Teşhise yönelik materyal içeriği açısından en umut verici olan materyallerden biri DOS'tur. Periodontistlerin ihtiyaı olabilecek teşhis materyalinin tamamı DOS'ta mevcuttur (178).

2.7. Dişeti Oluğu Sıvısı

Dişeti oluğu sıvısı, dişeti sulkusu veya periodontal cep kaynaklı inflamatuvar bir eksudadır. Diş yüzeyinde bulunan biyofilm ile periodontal hücrelerin etkileşimi sonucunda oluşur; hacmi mikrolitrelerle ölçülür (186). DOS ile ilgili çalışmalar 1950'lerin sonuna dayanmaktadır (187) Periodontal dokulardaki inflamasyon ile genellikle artış gösterir (188). Konak bakteri etkileşimlerinde hem yıkama etkisiyle fiziksel olarak hem de antibakteriyel elemanların bölgeye taşınması ile koruyucu olarak rol oynar (189). Dişeti oluğu sıvısındaki biyobelirteçlerin teşhiste kullanılması ile ilgili 1990'lı yıllarda çok sayıda çalışma yayınlanmıştır (190). Le ve ark (18) alışmalarında DOS'un, periodontal hastalıkların teşhisine yardımcı olarak kullanılabilirliğini göstermişlerdir. Yıkılan periodontal dokudan salınan enzimlerin DOS'ta bulunduğu, bu sayede DOS'un teşhis amacıyla kullanılma potansiyeli olduğu gösterilmiştir. DOS'ta kollajenaz, elastaz ve nötrofillerin varlığı ile bunların aktivitesinin gingival inflamasyon ve cep derinliği ile uyumlu olduğu çalışmalarda görülmüştür. (191-193).

2.7.1. DOS Oluşumu

DOS serum kaynaklı kompleks bir materyal karışımıdır. Gingival pleksus damarlarından köken alır. Sıvı, bazal membranı ve bağlantı epitelini geçerek sulkusa ulaşır. Oluşumuyla ilgili ilk teoriler iki mekanizma üzerine yoğunlaşmaktadır. Bunlar ozmotik gradiyent farkı ve klasik inflamasyon sonucu gelişen olaylardır (194). Gingivitis modelinde, bazal membrana biriken bakteriler, ozmotik gradiyent farkına sebep olur ve damarlardan sulkusa sıvı geçişi ile sulkusta pre-inflamatuvar eksuda birikmeye başlar. Daha sonra sekonder inflamasyon, Weinstein ve ark (195) tarafından tanımlanan Şekilde gerçekleşir. Protein/kalsiyum oranı normal sulkusa göre, inflame dokularda belirgin artış gösterir. DOS'taki artış

inflamasyonun tipik bir olayıdır ve hücrel infiltrasyon buna eşlik eder. Hücrel savunma sisteminin birincil üyesi olarak bilinen nötrofiller, kan damarlarını terk ederek bağ dokusu ve birleşim epitelinden geçerek sulkusa ulaşırlar. Bu göç bakteriyel ürünlerin kemotaktik özelliği ve konak kemotaktik faktörleri ile gerçekleşir (194). Periodontitis durumunda DOS'un akış hızı sağlıklı sulkusa göre 30 kata kadar artabilir. DOS periodonsiyumun mikrobiyal savunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu savunmada lökositler temel rolü oynarlar (196).

2.7.2. DOS'un Toplanması ve Hacim Ölçümü

DOS'un toplanmasında kullanılmış olan teknikler yıkama teknikleri, kapiller tüpler- mikropipetler ve absorbe edici kağıt şeritler ile toplama yöntemleridir (196). DOS toplamasında en sık kullanılan yöntem absorbe edici kağıt şeritlerin kullanılmasıdır. Çoğu araştırmacının kullandığı kâğıt şeritler (*Periopaper*, Oraflow Inc., Amityville, NY), yaklaşık 1.2 µl sıvı absorbe edebilen sterilize edilmiş kâğıt şeritlerdir. Standardize toplama yönteminde kâğıt şeritler sulkus içine 1-2 mm girecek şekilde yerleştirilip 30 saniye boyunca bekletilir (188). *Periopaper* striplerle toplanan DOS'un hacmini ölçmek için periotron cihazı kullanılır. Bu cihaz, metal çenelerin kapasitansı yardımıyla striplerin ıslaklığını tespit ederek hacim ölçümü sağlar. Periotron cihazı, hacmi bilinen miktarda sıvıyla pipetlenmiş stripler kullanılarak kalibre edilmelidir (188).

2.7.3. DOS'un içeriği

DOS, serum kaynaklı kompleks bir materyal karışımıdır. DOS'taki konak kaynaklı maddeler; antikolar, sitokinler, enzimler ve doku yıkım ürünleridir. DOS'un içeriği sağlıktan hastalığa geçişte değiştiği gibi, hastalığın ilerleme aşamasında da değişir. Bu yüzden bazı biyobelirteçler ile hasta bazlı veya bölge bazlı geleceğe yönelik öngörüler elde edilebilir (194). Sağlık durumunda DOS serum kaynaklı bir transuda niteliği taşıırken, gingivitis ve periodontitis durumunda inflamatuvar bir eksudaya dönüşür (186).

Bu durumda DOS'ta görülen materyaller temel olarak;

- Periodontal patojenlerin varlığını veya yokluğunu gösterenler,
- Gingival ve periodontal inflamasyon belirteçleri,
- Konağın patojenlere karşı cevap ürünleri,
- Doku yıkımının ürünleri olarak sınıflandırılabilir (178)

Periodontal hastalıkta konak cevabı önemli bir faktör olduğundan hastalık riski veya aktivitesinin tespitinde inflamatuvar mediyatör seviyeleri önemli bir veridir. Çalışmalarla DOS'ta 432 farklı protein tespit edilmiştir (197-199). Bunlardan birçoğu hem sağlık hem hastalık durumunda bulunmaktadır. DOS'taki içeriği periodontal hastalık ile ilişkilendirmek için geniş populasyonlarla yapılan çalışmalara ihtiyaç vardır (194). DOS'un proteomik analizi ile ilgili çalışmalar çok yenidir. Sağlıklı bireylerdeki protein kompozisyonunun anlaşılması ile bunun referans kabul edilmesi, DOS'un periodontal hastalıkların teşhisinde standart olarak kullanılmasını sağlayacaktır (194). Bostancı ve ark (200) tarafından yapılan bir çalışmada, sağlıklı ve agresif periodontitis durumlarında DOS'taki protein seviyeleri ve çeşitliliği kütle spektrometri yöntemiyle karşılaştırılmış, toplam 154 protein tespit edilmiştir. Bu çalışmada agresif periodontitis durumunda protein konsantrasyonunda artış olduğu görülmüştür (200).

Yapılan çalışmaları baz alarak hasta başı kullanım için geliştirilmiş DOS'ta proteaz aktivitesi, aspartat aminotransferaz aktivitesi, elastaz aktivitesi ve 3-glukronidaz aktivitesi ölçen kitler mevcuttur (178).

2.8. Peri-implant Oluk Sıvısı

Peri implant oluk sıvısı (PİOS) ozmotik olaylar sonucu ortaya çıkmış gingival pleksus damarlarından kaynak alan bir inflamatuvar eksudadır. İçerik olarak dişeti oluğu sıvısına benzerdir. DOS'taki gibi konak kaynaklı enzimleri, inhibitörlerini, inflamatuvar mediyatörleri, konak cevabı modifiye edicileri ve doku yıkım ürünlerini içerir. PİOS'a yönelik olarak yapılan çalışmalar, PİOS'daki biyobelirteç ve enzimlerin hastalık ve sağlık durumunu ayırt etmede kullanılabilir olduğunu göstermiştir (20). PİOS'da toplam 13 sitokin incelenmiştir. (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IFN- γ , PGE₂ ve TNF- α) Bunlardan IL-1 β ve TNF- α biyobelirteç olarak en çok çalışılanlardır. Peri implant inflamasyon

ve yıkım durumunda, bu sitokinlerin sağlıklı bölgelere göre anlamlı ölçüde arttığını gösteren birçok çalışma mevcuttur (20). Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), dokularda ekstraselüler proteinlerin yıkımında görevli endopeptitazlardır. Periodontitis ve peri-implantitiste MMP'lerin artışı bağ dokusunun geri dönüşümsüz olarak yıkımına işaret eder (201). PİOS'daki MMP düzeyinin doku yıkımı ile ilişkisini inceleyen çalışmalar, implant çevresi inflamatuvar durum ile MMP düzeyi arasında korelasyon olduğunu göstermiştir (21,202). Myeloperoksidaz (MPO) ve elastaz lökosit kaynaklı enzimlerdir. İmplant çevresi inflamatuvar durumların varlığında PİOS'da MPO'nun ve elastazın artışını gösteren çalışmalar mevcuttur (22, 203). Doku yaralanması ve yıkım durumlarında artış gösteren bir proteaz olan katepsin-K'nın, peri-implant kemik kaybı durumunda diagnostik olarak kullanılabilceği Yamalık ve ark. tarafından gösterilmiştir (204). Arıkan ve ark (205), sRANKL ve OPG konsantrasyonlarını, sağlıklı implant çevrelerinde, peri-implantitisli hastalara göre daha yüksek bulmuştur. Bununla beraber Rakic ve ark (206)'larının yaptığı çalışmada sRANKL ve OPG konsantrasyonları peri-implantitisli bölgelerde yüksek bulunmuştur.

2.9. DOS ile PİOS'un Karşılaştırması

Günümüze kadar az sayıda çalışma, DOS ve PİOS'u içerik olarak karşılaştırmıştır (8, 19, 22, 207-209). Bu çalışmalar olası sitokin farkları üzerinden sağlıklı diş ve implantlar arasındaki metabolik farkları ve periodontitis ile peri-implantitis patogenezi arasındaki farkları tespit etmeyi amaçlamaktadır. Nowzari ve ark (8) tarafından yapılan, sağlıklı diş ve sağlıklı implantların çevresindeki inflamatuvar sitokin profilini değerlendiren çalışmada, implant çevresinde inflamatuvar sitokin konsantrasyonunun genel olarak daha yüksek olduğu, incelenen altı sitokin arasında (IL-8, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , IL-12) IL-8'in en büyük farkı gösterdiği tespit edilmiştir (8). Recker ve ark (209) tarafından yapılan yine sağlıklı diş ve implantların karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada, TNF- α ve IL-7A seviyelerinin PİOS'da, DOS'a göre belirgin derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Gürlek ve ark (19) tarafından yapılan çalışmada sağlıklı implantlarda PİOS'daki IL-1 β seviyeleri, sağlıklı dişlerdeki DOS IL-1 β seviyelerine göre belirgin oranda yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada sRANKL konsantrasyonları

ise gingivitis grubunda, peri-implant mukositis grubuna göre yüksek bulunmuştur (19).

DOS ve PİOS'un hastalık durumunda karşılaştırıldığı çalışmalar MMP-8'i peri-implantitiste daha yüksek olarak bulmuştur (210, 211). Diş ve implant çevresi sitokin profilindeki farklılıklara, diş ve implanttaki anatomik, histolojik ve fonksiyonel farklılıkların sebep olabileceği düşünülmektedir (8). İmplant çevresinde, sağlık durumunda dahi daha derin cep derinliklerinin bulunması, anaerobik gram-negatif bakteri türlerinin kolonizasyonu için daha elverişli bir ortam hazırlaması veya implantın titanyum partiküllerine karşı konak tarafında oluşabilecek yabancı cisim reaksiyonunun varlığının da bu farklılığa sebep olabileceği belirtilmektedir (8).

Sunulan bu bilgiler ışığında tez çalışmamızın amacı:

- 1) Sağlıklı veya peri-implantitisli dental implantların PİOS'unda; sağlıklı ve periodontitisli dişlerin DOS'unda sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG düzeylerinin tespit edilmesi,
- 2) Sklerostin gibi DOS'ta az çalışılmış veya TWEAK gibi hiç çalışılmamış biyobelirteçleri RANKL ve OPG gibi birçok kez çalışılmış ve güvenli sayılan biyobelirteçler ile karşılaştırması,
- 3) Hastalık ve sağlık durumlarında PİOS ve DOS'tan elde edilen sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG gibi biyokimyasal değerlerin ve periodontal klinik parametre sonuçlarının birbirleri ile karşılaştırılması,
- 4) Periodontitisli diş ve peri-implantitisli implantlar ile periodontal olarak sağlıklı diş ve peri-implant olarak sağlıklı implantları kendi aralarında karşılaştırarak incelenen parametreler açısından periodontal ve peri-implant doku metabolizmaları arasındaki farklılıkların değerlendirmesidir.

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışma, daha önceden Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na tedavi amacıyla başvuran ve çalışma protokolünü kabul eden hastalar üzerinde gerçekleştirildi.

Aşağıda belirtilen kriterlere sahip olan bireyler çalışmaya dahil edildi:

- 1) Son 6 ay içerisinde herhangi bir periodontal tedavi görmemiş olan,
- 2) Örneklemeden önceki 3 ay süresince çalışma sonuçlarını etkileyebilecek ilaç (gargara, antibiyotik, non-steroidal antiinflatuar, kortikosteroid) kullanmayan,
- 3) Kontrolsüz diyabeti veya periodontal durumu etkileyebilecek başka herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan,
- 4) Sigara kullanmayan,
- 5) Hamile/laktasyon döneminde olmayan,
- 6) Ortodontik tedavi görmüyor olan ve
- 7) Mevcut dentisyonunda en az 6 aydır fonksiyonda olan en az bir tane dental implant destekli sabit protetik restorasyon sahibi olan hastalar.

Bu kriterler doğrultusunda toplam 91 (50 kadın, 41 erkek) hastada bulunan 39 diş ve 52 implant çalışmamızda yer aldı. Çalışma protokolü oluşturulduktan sonra 9 Ağustos 2016 tarihli, GO 16/524-20 karar no'lu Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı (Ek-1) alınmasından sonra araştırmaya başlandı. Tüm bireylere çalışma öncesinde hastalıklarının durumu, çalışmanın önemi ve tedavi yöntemi ile yapılacak uygulama hakkında bilgi verilerek hastaların onayı alındı.

3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

Kriterlere uyan ve çalışmaya katılmayı kabul eden bireyler, ilk seansta peri-implant ve periodontal sağlık durumları değerlendirilmek üzere muayene edildi. Michigan O-probe ile yapılan sondlamanın DOS/PIOS hacmine etkisini ortadan kaldırmak amacı ile ikinci bir randevuda bireylerin implant veya dişlerinden DOS

veya PİOS örnekleri alındı ve dişler veya implantların klinik muayenesi yapılarak indeks değerleri kayıt edildi. Bu ölçümlere göre çalışma grupları şu şekilde oluşturuldu:

I. Peri-implantitis Grubu: Bu gruba, klinik ve radyografik muayene sonucunda en az bir implant çevresinde, implantın en az bir yüzünde 5 mm'ye eşit veya 5mm'yi geçen cep derinliği bulunan ve buna ek olarak radyografik incelemede implant çevresinde 2 mm'yi aşan kemik kaybı görülen hastalar dahil edildi (212).

II. Peri-implant Sağlık Grubu: Bu gruba, klinik ve radyografik muayene sonucunda implant çevresinde yapılan sondlama ile implantın hiçbir yüzeyinde 4 mm'yi aşan cep derinliğine sahip olmayan ve radyografik incelemede implant çevresinde kemik kaybı görülmeyen hastalar dahil edildi (212).

III. Periodontitis Grubu: Bu gruba, klinik ve radyografik muayene sonucunda en az bir diş çevresinde ve dişin en az bir yüzünde 4mm'ye eşit veya 4mm'yi geçen cep derinliği bulunan ve buna ek olarak radyografik incelemede diş çevresinde kemik kaybı görülen hastalar dahil edildi (213).

IV. Periodontal Sağlık Grubu: Bu gruba, klinik ve radyografik muayene sonucunda, tüm ağız dişlere yapılan sondlamada, hiçbir yüzeyde 3mm'yi aşan sondlama derinliğine sahip olmayan hastalar dahil edildi (213).

3.3. Klinik Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen implant ve dişlerin klinik durumlarının belirlenmesi amacıyla cep derinliği miktarı, ataçman kaybı miktarı, plak indeksi, gingival kanama zamanı indeksi ve gingival indeks değerleri kaydedildi.

3.3.1. Cep Derinliğinin Belirlenmesi

Cep derinliğinin belirlenmesi amacıyla periodontal sond kullanıldı (Michigan O Color-Coded Probe, Hu-Friedy, Chicago, IL) ve ölçümler sırasında sondun dişin veya implantın uzun aksına paralel olmasına dikkat edildi. Cep derinliği (CD) her implant veya diş için 4 bölgeden (mezio-bukkal, mid- bukkal,

disto-bukkal, mid-lingual/palatal) ölçülerek milimetre (mm) cinsinden kaydedildi. Her implant veya diş için cep derinliği değeri, ölçülen 4 değerin ortalamasının alınmasıyla elde edildi.

3.3.2. Dişeti Çekilme Miktarının Belirlenmesi

Dişeti çekilme (DÇ) miktarının belirlenmesi amacıyla referans noktası olarak dişte mine-sement sınırı, implantta abutment-implant ara yüzü belirlendi ve referans noktası ile serbest dişeti kenarı arasındaki mesafe periodontal sond kullanılarak hesaplandı. Dişeti çekilmesi her diş veya implant için 4 bölgeden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mid-lingual/palatal, disto-lingual/palatal) kaydedildi. Her diş ve implant için dişeti çekilmesi değeri ölçülen 4 değerin ortalamasının alınmasıyla elde edildi.

3.3.3. Dental Plak Varlığı ve Birikim Düzeyinin Belirlenmesi

Diş ve implantların etrafındaki plak birikimi, Silnes ve Loe tarafından geliştirilen Plak İndeksi (Pİ) kullanılarak kaydedildi (214).

Buna göre;

- 0- Plak bulunmadığını,
- 1- Serbest dişeti kenarına ve komşu diş yüzeyine tutunmuş film şeklinde ve periodontal sond yardımı ile fark edilebilen plak varlığını,
- 2- Çıplak gözle dişeti kenarında ve diş yüzeyinde gözle görülebilen yumuşak eklenti varlığını,
- 3- Dişeti kenarında ve diş yüzeyinde aşırı derecede yumuşak eklenti varlığını göstermektedir.

Ölçüm yapılan her diş veya implantın Pİ değeri, her bir diş veya implant için 4 bölgeden (mid- mezial, mid-bukkal, mid-distal, mid-lingual/palatal) kaydedilen skorların ortalamasının alınmasıyla elde edildi.

3.3.4. Dişetinde Klinik İltihap Varlığı ve Şiddetinin Belirlenmesi

Periodontal ve peri-implant bölgede klinik iltihap varlığı/şiddeti Løe ve Silness tarafından geliştirilen Gingival İndeks (Gİ)(214) ve Nowicki ve ark. tarafından tanımlanan Dişeti Kanama Zamanı İndeksi (DKZİ) (215) kullanılarak kaydedildi.

Buna göre Gingival İndeks;

- 0- Normal dişetini,
- 1- Hafif iltihap, hafif renk değişikliği, hafif ödem varlığı ile birlikte sondlamada kanama olmadığını,
- 2- Orta derecede iltihap, hiperemi, ödem ve parlaklıkla beraber sondlamada kanama varlığını,
- 3- Şiddetli iltihap, bariz hiperemi ve ödem, ülserasyon ve spontan kanamaya eğilim varlığını göstermektedir.

Dişeti Kanama Zamanı İndeksi;

- 0- İlk sondlama ve 15 saniye sonra yapılan ikinci sondlama sonrası kanama olmadığını,
- 1- İlk sondlama sonrası kanama olmadığını, 15 saniye sonra yapılan ikinci sondlama sonrasındaki 6-15 saniye arasında kanama olduğunu,
- 2- İlk sondlamadaki 11-15 saniye arasında veya ilk sondlamada kanama yokken 15 saniye sonrasında yapılan ikinci sondlama sonrasındaki ilk 5 saniyede kanama olduğunu,
- 3- İlk sondlama sonrasındaki ilk 10 saniye içinde kanama olduğunu,
- 4- Sondlama olmaksızın, spontan kanama olduğunu göstermektedir.

Ölçüm yapılan her diş ve implantın Gİ ve DKZİ değerleri, bir diş veya implant için 4 bölgeden (mid- mezial, mid-bukkal, mid-distal, mid-lingual/palatal) kaydedilen skorların ortalamasının alınmasıyla elde edildi.

3.4. DOS ve PİOS Örneklerinin Elde Edilmesi ve Hacim Ölçümünün Yapılması

DOS ve PİOS örnekleri her diş veya implant için 4 bölgeden (mid-mezial, mid-bukkal, mid-distal ve mid-lingual/palatal) steril kağıt şeritler (Periopaper strips, OraFlow, Amityville, NY) kullanılarak elde edildi. Örnekleme bölgesi rulo pamuk ile izole edildikten ve supragingival plak bölgeden uzaklaştırıldıktan sonra bölge plak/salya kontaminasyonunun önlenmesi için nazıkçe hava ile kurutuldu. Kağıt şeritler mekanik travma yaratmamaya özen gösterilerek dişeti oluşuna veya peri-implant oluşa yaklaşık 1mm derinliğinde yerleştirildi, 30 sn. standart örnekleme süresi tanındı. Buharlaştırma riskinin önlenmesi için kağıt şeritler hemen önceden kalibre edilmiş olan *chair-side* elektronik gingival sıvı ölçüm cihazına (Periotron 8000, OraFlow, Amityville, NY) transfer edilerek hacim değerleri ölçüldü. Yapılan ölçüm değerleri yazılım programı (MLCONVERT.EXE software version 2.52, OraFlow, Amityville, NY) yardımı ile mikrolitreye çevrildi. Her diş ve implant için elde edilen dört ölçümün ortalaması alınarak, bir diş veya implant için ortalama DOS veya PİOS hacmi belirlendi. Ölçümün yapılmasını takiben her diş veya implant için kullanılan tüm kağıt şeritler tek bir steril Eppendorf tüpe alınarak -20°'de sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG tayini için saklandı.

3.5. DOS ve PİOS'ta Sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG Miktarlarının Belirlenmesi

DOS ve PİOS örneklerinin ekstraksiyonu için Eppendorf tüpler içerisinde saklanan Periopaper'ların turuncu bölgeleri kesilerek uzaklaştırıldı. Kalan Periopaper örnekleri 800 µl PBS (*Phosphate Buffered Saline*) kullanılarak seyreltildi ve vortekslendi. Takiben örnekler 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Örneklerdeki sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla ELISA (Elabscience Human Sclerostin ELISA Kit, Elabscience Human TWEAK ELISA Kit, Human sRANKL ELISA Kit, Human OPG(Osteoprotogerin) ELISA Kit *Elabscience Biotechnology Inc., Houston, Texas*) yöntemi kullanıldı.

Test prensipleri:

Test içerisinde hazır olarak çıkan mikrokuyucuklar üzerine çalışılan proteinin (x: sklerostin, TWEAK, RANKL, veya OPG) antikoru emdirilmiştir. Örnekte veya standartta bulunan proteinler mikrokuyucuklardaki adsorbe edilmiş antikorlara bağlanır. Biotin ile konjuge edilmiş monoklonal *anti-x antikor*, ilk antikor tarafından yakalanmış olan x'e bağlanır. Streptavidin HRP, biotin ile konjuge edilmiş *anti-x'e* bağlanır. İnkübasyonu takiben bağlanmamış "biotin ile konjuge edilmiş *anti-x*" ve Streptavidin-HRP yıkama aşaması ile uzaklaştırılır ve HRP ile reaktif olan substrat solüsyonu eklenir. Örneklerde mevcut olan çözünebilir protein oranına göre renkli bir ürün oluşur. Reaksiyon asit eklenmesi ile sonlandırılır ve absorbansı 450 nm'de ölçülür. Standart dilüsyonlardan elde edilen absorbans değerleri ölçülerek standart eğrisi elde edilir ve protein örneklerinin konsantrasyonu belirlenir.

Sandviç ELISA protokolü:

1. Her örnekten veya standarttan mikrokuyucuğa 100 µl eklendi.
2. Plak yapışkan filmle kapatılarak 37°'de 1,5 saat inkübe edildi.
3. Yapışkan film uzaklaştırıldı. Mikrokuyucuklardaki sıvı yıkama yapılmadan uzaklaştırıp biotin ile konjuge edilmiş *anti-x* mikrokuyucuklara eklendi. 1 saatlik inkübasyona bırakıldı.
4. Mikrokuyucuklar yıkama solüsyonu (Wash Buffer-PBS with %1 Tween 20) ile 3'er kez yıkandı. Yıkamalar arasında yıkama solüsyonunun mikrokuyucuklara yayılması için 10-15 saniye beklenecek aspirasyon yapıldı.
5. Tüm mikrokuyucuklara 100 µl HRP konjugatı eklendi. Plaklar yapışkan filmle kapatılarak 37°'de 30 dakika inkübe edildi.
6. Yapışkan film uzaklaştırıldı. Mikrokuyucuklar yıkama solüsyonu (Wash Buffer-PBS with %1 Tween 20) ile beşer kez yıkandı.
7. Her kuyucuğa 90 µl'lik substrat (TMB) eklendi. 37°'de 15 dakika inkübe

edildi.

8. Her mikrokuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu (Stop Solution- 1M sülfirik asit) eklenerek enzim reaksiyonu sonlandırıldı. Sonuçlar anında spektrofotometre kullanılarak okundu.

9. Her mikrokuyucuk için (standart ve örnekler) spektrofotometre kullanılarak absorbans değerleri okunarak kaydedildi. (Primer dalga boyu 450 nm kullanıldı.)

10. Spektrofotometreden elde edilen standart mikrokuyucukların absorbans değerlerine göre bir standart eğri oluşturuldu. Değerleri bilinmeyen örneklerin konsantrasyonları bu eğri üzerinden okunarak belirlendi. DOS ve PİOS örneklerindeki miktarları hesaplanarak sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG pikogram (pg/mL) olarak belirlendi.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma gruplarında incelenen parametrelerin gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde Kruskal Wallis analizi kullanıldı. Kruskal Wallis ile gruplar arası fark tespit edilen parametrelerde ikili karşılaştırmalar için ise Dunn Testi kullanıldı. İncelenen parametreler arası korelasyonlar ise Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza toplam 39 diş ve 52 implant dahil edildi. Dahil edilen implantlar cep derinliği ve krestal kemiğin radyografik olarak incelenmesi ile “Peri-implantitis” veya “Peri-implant Sağlık” olmak üzere, dişler ise cep derinliklerine göre “Periodontitis” veya “Periodontal Sağlık” olmak üzere, ikiye gruba ayrıldılar. Peri-implantitis grubuna yaş ortalamaları 55.85 olan, 17 kadın 10 erkek toplam 27 hasta dahil edilirken; peri-implant sağlık grubuna yaş ortalamaları 50.64 olan 12 kadın, 13 erkek toplam 25 hasta dahil edildi. Periodontitis grubuna ise yaş ortalamaları 52.43 olan 11 kadın, 11 erkek, toplam 22 hasta dahil edilirken; periodontal sağlık grubuna yaş ortalamaları 48.47 olan 10 kadın, 7 erkek toplam 17 hastadan dahil edildi (Tablo 4.1).

4.1. Genel Bulgular

Çalışma gruplarına ait cinsiyet dağılımı ve yaş ortalamaları Tablo 4.1’de özetlenmiştir. Buna göre periodontitis, periodontal sağlık, peri-implantitis ve peri-implant sağlık gruplarındaki yaş ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla 52.43 ± 12.49 , 48.47 ± 16.13 , 55.85 ± 14.22 ve 50.64 ± 13.36 olup, yaş açısından gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0.345$). Gruplar arasında cinsiyet açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0.549$).

Tablo 4.1. Gruplara ait yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımı

	PERİ-İMLANTİTİS	PERİ-İMLANT SAĞLIK	PERİODONTİTİS	PERİODONTAL SAĞLIK	TOPLAM
YAŞ	55.85 ± 14.22 (22 - 76)	50.64 ± 13.36 (22 - 78)	52.43 ± 12.49 (29 - 76)	48.47 ± 16.13 (22 - 68)	51.84 ± 14.05 (22 - 78)
KADIN	17 (%37.0)	12 (%48.0)	11 (%50.0)	10 (%58.8)	50
ERKEK	10 (%63.0)	13 (%52.0)	11 (%50.0)	7 (%41.2)	41
TOPLAM	27 (%100.0)	25 (%100.0)	22 (%100.0)	17 (%100.0)	91

4.2. Klinik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen dental implantlar ve dişlere ait cep derinliği, dişeti çekilmesi, dişeti kanama zamanı indeksi, gingival indeks, plak indeksi ve DOS hacim değerleri tespit edilmiş ve bu değerlerin gruplar arası farklılıkları incelenmiştir (Tablo 4.2., 4.3., 4.4., 4.5., 4.6., 4.7., Şekil 4.1. ve 4.2).

4.2.1. Cep derinliği (CD):

Elde edilen ölçümlerin ortalamaları ve standart sapmaları, peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için milimetre cinsinden sırasıyla 5.52 ± 1.64 , 3.40 ± 0.50 , 6.36 ± 2.18 ve 2.19 ± 0.71 'dir (Tablo 4.2.). Gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.0001$). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda ise, peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında CD açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0.0001$). Benzer şekilde periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.0001$). Ayrıca, peri-implantitis ve periodontitis gruplarının CD değerleri ($p = 0.414$) ve peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarının CD değerleri ($p = 0.67$) arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.2., Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.).

Tablo 4.2. Gruplara ait cep derinlikleri değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	p
CD (mm)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	
	$5.52 \pm 1.64^{\text{B}}$ (3.50 - 10.00)	3.40 ± 0.50 (2.00 - 4.50)	$6.36 \pm 2.18^{\text{Ω}}$ (3.75 - 11.25)	2.19 ± 0.71 (1.00 - 3.00)	<0.0001

^B: Peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0.0001$).

^Ω: Periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0.0001$).

4.2.2. Dişeti Çekilmesi (DÇ):

Dişeti çekilmesi değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları, peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için milimetre cinsinden sırasıyla 0.36 ± 0.62 , 0.07 ± 0.19 , 1.67 ± 1.15 ve 0.69 ± 0.95 'dir. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.0001$). Ancak, grupların ikili karşılaştırmalarında peri-implantitis grubunda DÇ değerleri daha yüksek olmasına rağmen peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında ($p = 0.574$); ve de benzer şekilde periodontitis grubundaki DÇ değerleri daha yüksek olmasına rağmen periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark tespit edilemedi ($p = 0.057$). Diğer yandan peri-implantitis ve periodontitis gruplarının DÇ değerleri ($p < 0.0001$) ve peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarının DÇ değerleri ($p = 0.026$) arasında anlamlı bir fark tespit edildi (Tablo 4.3., Şekil 4.1. ve Şekil 4.2).

Tablo 4.3. Gruplara ait dişeti çekilmesi değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	p
	Ort \pm S.S (min-maks)	Ort \pm S.S (min-maks)	Ort \pm S.S (min-maks)	Ort \pm S.S (min-maks)	
DÇ (mm)	0.36 ± 0.62^B (0.00 – 2.75)	$0.07 \pm 0.19^\Omega$ (0.00 -0.75)	1.67 ± 1.15 (0.00 - 4.25)	0.69 ± 0.95 (0.00 - 3.25)	<0.0001

^B: Peri-implantitis ve periodontitis grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0.0001$).

^Ω: Peri-implant sağlık ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p = 0.026$).

4.2.3. Dişeti Kanama Zamanı İndeksi (DKZİ):

Dişeti kanama zamanı indeksi skorlarının ortalamaları ve standart sapmaları peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için milimetre cinsinden sırasıyla 2.37 ± 0.63 , 1.27 ± 0.76 , 2.00 ± 0.79 ve 1.00 ± 1.06 'dir. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.0001$). Grupların bu parametre cinsinden ikili karşılaştırmalarında ise peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.0001$). Ayrıca periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında da DKZİ değerleri açısından anlamlı fark tespit edildi ($p = 0.014$). Ancak, peri-implantitis ve periodontitis

gruplarının DKZİ değerleri ($p>0.05$) ve peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarının DKZİ değerleri ($p>0.05$) arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.4., Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.).

Tablo 4.4. Gruplara ait dişeti kanama zamanı indeksi (DKZİ) değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	p
	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	
DKZİ	2.37 ± 0.63 ^B (1.00 - 3.75)	1.27 ± 0.76 (0.00 - 3.25)	2.00 ± 0.79 ^Ω (0.25 - 3.00)	1.00 ± 1.06 (0.00 - 3.00)	<0.0001

^B: Peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.0001$).

^Ω: Periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0.014$).

4.2.4. Gingival indeks (Gİ):

Gingival indeks değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için milimetre cinsinden sırasıyla 1.95 ± 0.26 , 0.00 ± 0.00 , 1.82 ± 0.44 ve 0.00 ± 0.00 'dir. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi ($p<0.0001$). Grupların ikili karşılaştırmalarında ise peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.015$). Ayrıca periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.0001$). Ayrıca, peri-implantitis ve periodontitis gruplarının Gİ değerleri ($p>0.05$) ve peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarının Gİ değerleri ($p>0.05$) arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 4.5., Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.).

Tablo 4.5. Gruplara ait gingival indeks değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	p
	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	
Gİ	1.95 ± 0.26 ^B (1.00 - 2.75)	0.00 ± 0.00 (0.00 - 0.00)	1.82 ± 0.44 ^Ω (0.00-1.75)	0.00 ± 0.00 (0.00 - 0.00)	<0.0001

^B: Peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0.015$).

^Ω: Periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.0001$).

4.2.5. Plak indeksi (Pİ)

Plak indeksi değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için milimetre cinsinden sırasıyla 0.56 ± 0.71 , 0.26 ± 0.58 , 1.35 ± 0.69 ve 0.63 ± 0.54 'dür. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.0001$). Gruplar arası ikili karşılaştırma sonucunda ise Pİ değerleri açısından periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.02$). Peri-implantitis grubundaki Pİ değerleri peri-implant sağlık grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen bu iki grup arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p = 0.546$). Ayrıca, peri-implantitis ve periodontitis gruplarının Pİ değerleri arasında fark bulunurken ($p = 0.002$), peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarının Pİ değerleri ($p = 0.505$) arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.6., Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.).

Tablo 4.6. Gruplara ait plak indeksi değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	p
	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	
Pİ	0.56 ± 0.71 (0.00 – 2.00)	0.26 ± 0.58 (0.00 – 2.00)	$1.35 \pm 0.69^{\Omega, B}$ (0.00 – 3.00)	0.63 ± 0.54 (0.00 – 1.75)	<0.0001

^Ω: Periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0.0001$).

^B: Peri-implantitis ve periodontitis grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p = 0.02$).

4.2.6. DOS/PİOS Hacmi

Peri-implantitis ve peri-implant sağlık gruplarının PİOS hacmi karşılaştırmasında hacimlerin mikrolitre (μ l) cinsinden ortalama ve standart sapmaları peri-implantitis grubunda $0.40 \pm 0.18\mu$ l, peri-implant sağlık grubunda $0.28 \pm 0.12\mu$ l; DOS hacmi periodontitis grubunda $0.47 \pm 0.13\mu$ l, periodontal sağlık grubunda $0.30 \pm 0.14\mu$ l olarak tespit edilmiştir. DOS hacmi için yapılan gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.048$). Benzer şekilde periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasındaki DOS hacmi farkları da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.011$). Ayrıca, peri-implantitis ve periodontitis gruplarının PİOS/DOS hacim değerleri ($p = 0.717$) ve peri-implant

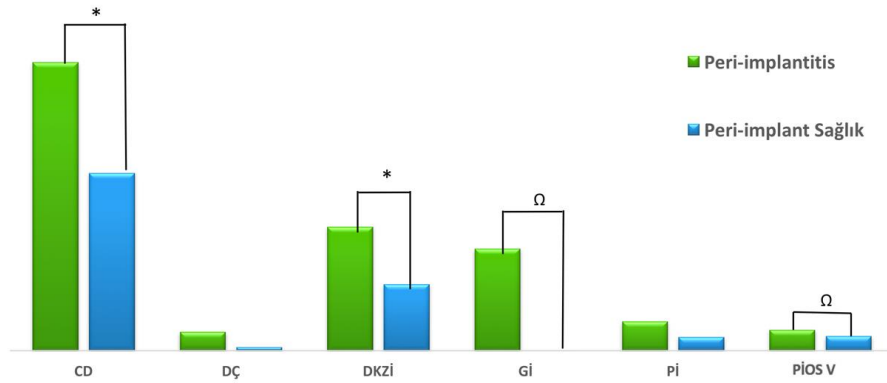
sağlık ve periodontal sağlık gruplarının PİOS/DOS hacim değerleri ($p=0.58$) arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 4.7., Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.).

Tablo 4.7. Gruplara ait PİOS / DOS hacim değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	p
	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	
PİOS /DOS HACMİ (µl)	0.40 ± 0.18 ^B (0.10 -0.68)	0.28 ± 0.12 (0.09 - 0.52)	0.47 ± 0.13 ^Ω (0.16 - 0.64)	0.30 ± 0.14 (0.02 - 0.59)	<0.0001

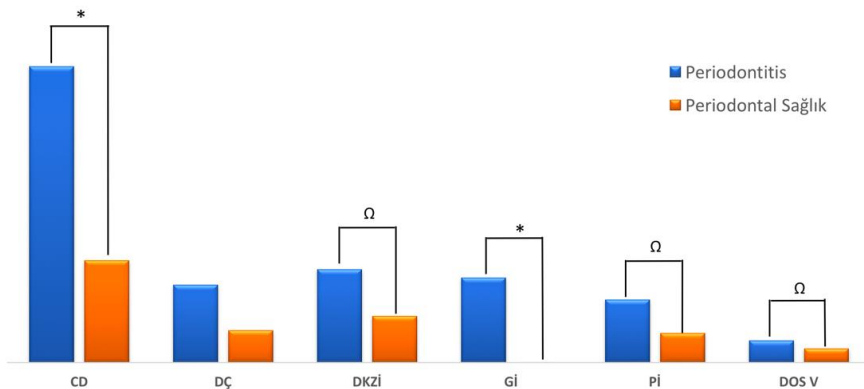
^B: Peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0.048$).

^Ω: Periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0.011$)



*: $p<0.0001$, ^Ω: $p<0.05$

Şekil 4.1. Peri-implantitis ve peri-implant sağlık gruplarındaki klinik parametre değerlerinin karşılaştırılması



*: $p<0.0001$, ^Ω: $p<0.05$

Şekil 4.2. Periodontitis ve periodontal sağlık gruplarındaki klinik parametre değerlerinin karşılaştırılması

4.3 Biyokimyasal Parametreler

Çalışmaya dahil edilen dental implantlar ve dişlerden elde edilen PİOS ve DOS örneklerinde sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG tespit edilmiş ve bu değerlerin gruplar arası farklılıkları incelenmiştir (Tablo 4.8., 4.9., 4.10., 4.11., 4.12., Şekil 4.3., 4.4.).

4.3.1. Sklerostin Düzeyleri

PİOS ve DOS'taki sklerostin değerleri pikogram/mililitre (pg/mL) cinsinden peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için sırası ile 63.05 ± 23.62 , 33.39 ± 22.94 , 66.63 ± 30.20 ve 55.38 ± 20.99 'dur. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.0001$). Gruplar arası ikili değerlendirmelerde ise peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı fark bulundu ($p = 0.002$). Ancak periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p = 0.221$). Ayrıca, peri-implantitis ve periodontitis gruplarının sklerostin değerleri ($p = 0.695$) ve peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarının sklerostin değerleri ($p = 0.126$) arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 4.8., Şekil 4.3., 4.4.).

Tablo 4.8. Gruplara ait sklerostin değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	p
	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	
SKLEROS-TİN (pg/ml)	63.05 ± 23.62^B (19.95 - 124.27)	33.39 ± 22.94 (2.90 - 85.02)	66.63 ± 30.20 (11.44 - 147.76)	55.38 ± 20.99 (19.99 - 97.38)	<0.0001

^B: Peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p = 0.002$).

4.3.2. TWEAK Düzeyleri:

PİOS ve DOS'taki TWEAK değerleri pikogram/mililitre (pg/mL) cinsinden peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için sırası ile 250.35 ± 122.95 , 80.02 ± 89.24 , 269.09 ± 134.75 ve 100.58 ± 64.73 'dür. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.0001$). Gruplar arası

yapılan ikili karşılaştırmalarda peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında PİOS TWEAK değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.0001$). Benzer şekilde periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında DOS TWEAK değerleri açısından anlamlı fark tespit edildi ($p=0.001$). Ayrıca, peri-implantitis ve periodontitis gruplarının TWEAK değerleri ($p=0.799$) ve peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarının TWEAK değerleri ($p=0.408$) arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 4.9., Şekil 4.3., 4.4.).

Tablo 4.9. Gruplara ait PİOS ve DOS TWEAK değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	p
	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	
TWEAK (pg/ml)	250.35 ± 122.95 ^B (19.95 - 124.27)	80.02 ± 89.24 (3.64 - 295.76)	269.09 ± 134.75 ^Ω (89.65 - 521.43)	100.58 ± 64.73 (10.72 - 265.29)	<0.0001

^B: Peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.0001$).

^Ω: Periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0.001$).

4.3.3. RANKL Düzeyleri

PİOS ve DOS'taki sRANKL değerleri pikogram/mililitre (pg/mL) cinsinden peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için sırası ile 1.84 ± 0.93 , 0.64 ± 0.43 , 2.54 ± 2.43 ve 0.46 ± 0.42 'dir. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi ($p<0.0001$). Gruplar arası yapılan ikili karşılaştırmalarda peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında PİOS RANKL değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.0001$). Ayrıca periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında da anlamlı fark tespit edildi ($p<0.0001$). Ayrıca, peri-implantitis ve periodontitis gruplarının RANKL değerleri ($p=0.819$) ve peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarının RANKL değerleri ($p=0.411$) arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. (Tablo 4.10., Şekil 4.3., 4.4.).

Tablo 4.10. Gruplara ait PİOS ve DOS RANKL değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	P
	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	
RANKL (pg/ml)	1.84 ± 0.93 ^B (0.27 - 3.60)	0.64 ± 0.43 (0.14 - 2.21)	2.54 ± 2.43 ^Ω (0.28 - 10.52)	0.46 ± 0.42 (0.01 - 1.42)	<0.0001

^B: Peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p<0.0001).

^Ω: Periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p<0.0001).

4.3.4. OPG Düzeyleri

PİOS ve DOS'taki OPG değerleri pikogram/mililitre (pg/mL) cinsinden peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için sırası ile 190.70 ± 180.02 , 107.87 ± 103.41 , 260.93 ± 196.71 ve 126.61 ± 87.40 'dır. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi (p<0.0001). Gruplar arası yapılan ikili karşılaştırmalarda peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında PİOS OPG değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p=0.037). Benzer şekilde periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında da anlamlı fark tespit edildi (p=0.025). Ayrıca, peri-implantitis ve periodontitis gruplarının OPG değerleri (p=0.151) ve peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarının OPG değerleri (p=0.086) arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. (Tablo 4.11., Şekil 4.3., 4.4.).

Tablo 4.11. Gruplara ait PİOS ve DOS OPG değerleri

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	P
	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	Ort ± S.S (min-maks)	
OPG (pg/ml)	190.70 ± 180.02 ^B (13.27 - 724.00)	107.87 ± 103.41 (10.18 - 499.28)	260.93 ± 196.71 ^Ω (24.13 - 767.64)	126.61 ± 87.40 (25.68 - 346.62)	<0.0001

^B: Peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p=0.037).

^Ω: Periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p=0.025).

4.3.5. RANKL/OPG Oranı

RANKL/OPG oranı için sonuçlar peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık grupları için sırası ile 0.0234 ± 0.0244 , 0.0153 ± 0.0171 , 0.0278 ± 0.0548 ve 0.0073 ± 0.009 'dur. Bu oran açısından gruplar arasında

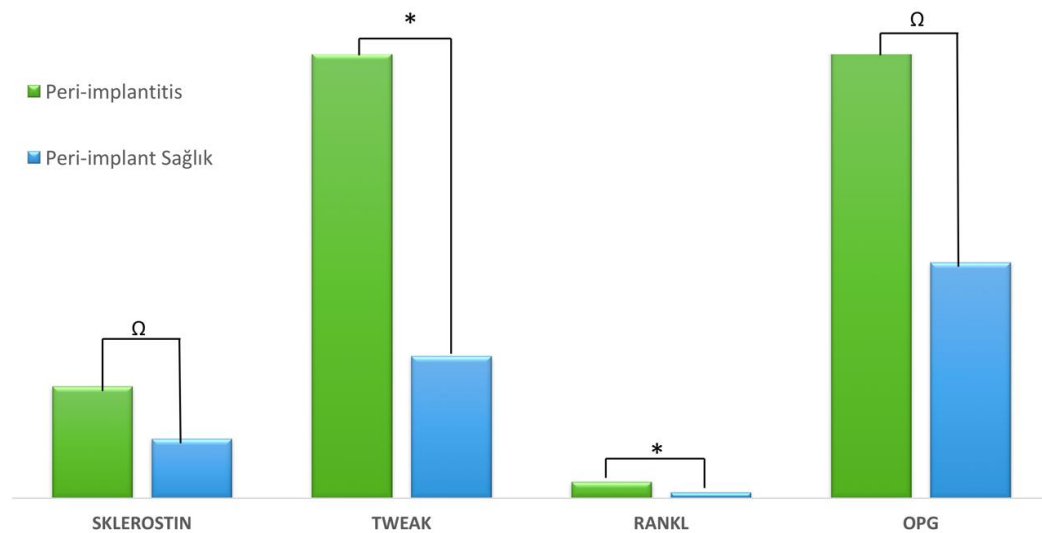
anlamli fark tespit edildi ($p=0.014$) (Tablo 4.12.). Gruplar arası yapılan ikili karşılaştırmalarda periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında DOS RANKL/OPG oranında anlamli fark tespit edildi ($p=0.022$). Benzer şekilde peri-implant sağlık ve periodontal sağlık grupları arasında da anlamli fark tespit edildi ($p=0.033$). Ayrıca, peri-implantitis ile periodontitis gruplarının RANKL/OPG oranları ($p=0.368$) ve peri-implantitis ile peri-implant sağlık gruplarının PİOS RANKL/OPG oranları ($p=0.076$) arasında anlamli bir fark tespit edilmedi.

Tablo 4.12. Gruplara ait RANKL/OPG oranları

	PERİ-İMLANTİTİS (n: 23)	PERİ-İMLANT SAĞLIK (n: 25)	PERİODONTİTİS (n: 22)	PERİODONTAL SAĞLIK (n: 17)	p
	Ort \pm S.S (min-maks)	Ort \pm S.S (min-maks)	Ort \pm S.S (min-maks)	Ort \pm S.S (min-maks)	
RANKL/ OPG	0.0234 \pm 0.0244 (0.0003-0.1084)	0.0153 \pm 0.0171 ^B (0.0010-0.0729)	0.0278 \pm 0.0548 ^Ω (0.0009-0.2483)	0.0073 \pm 0.009 (0.0289-1.00)	0.014

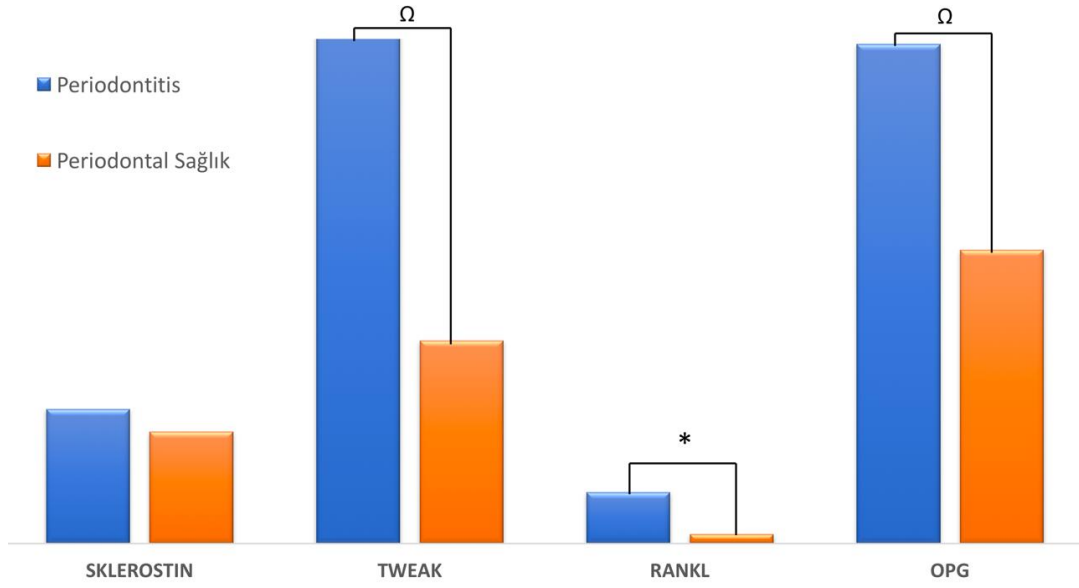
^Ω: Periodontitis ve periodontal sağlık grupları arasında anlamli fark bulunmaktadır ($p=0.022$).

^B: Peri-implant sağlık ve periodontal sağlık grupları arasında anlamli fark bulunmaktadır ($p=0.033$).



*: $p<0.0001$, ^Ω: $p<0.05$

Şekil 4.3. Peri-implantitis ve peri-implant sağlık gruplarındaki biyokimyasal parametre değerlerinin karşılaştırılması



*: $p < 0.0001$, Ω : $p < 0.05$

Şekil 4.4. Periodontitis ve periodontal sağlık gruplarındaki biyokimyasal parametre değerlerinin karşılaştırılması

4.4 Korelasyon analizi

Çalışmamızdaki klinik ve biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar (Tablo 4.13.) ve biyokimyasal parametrelerin kendi aralarındaki korelasyonlar da (Tablo 4.14.) değerlendirildi.

Klinik parametreler ve PİOS ve DOS örneklerinin incelenmesi ile elde edilen biyokimyasal veriler arasındaki parametreler incelendiğinde cep derinliği ile sklerostin ($p=0.0014$, $r=0.257$); cep derinliği ile TWEAK ($p < 0.0001$, $r=0.495$); cep derinliği ile RANKL ($p < 0.0001$, $r=0.551$) ve de cep derinliği ile OPG arasında ($p=0.043$, $r=0.216$) pozitif korelasyonlar tespit edildi. Diğer bir klinik parametre olan dişeti çekilmesi ile sklerostin ($p=0.009$, $r=0.279$); dişeti çekilmesi ile TWEAK ($p=0.009$, $r=0.296$) ve de dişeti çekilmesi ile OPG ($p=0.036$, $r=0.227$) arasında da anlamlı pozitif korelasyonlar bulundu. Klinik olarak var olan iltihabi durumun şiddetini yansıtan DKZİ ve Gİ ile TWEAK ve RANKL arasında da pozitif ve anlamlı korelasyonlar tespit edildi (TWEAK - DKZİ $p=0.043$, $r=0.228$; RANKL-

DKZİ p=0.005, r=0.289; TWEAK - Gİ p=0.008, r=0.297, RANKL - Gİ p<0.0001, r=0.386)(Tablo 4.13.).

Tablo 4.13. Klinik ve biyokimyasal bulgular arasındaki korelasyonlar

	CD	DÇ	DKZİ	Gİ
Sklerostin	p:0.0014 r:0.257	p:0.009 r:0.279		
TWEAK	p<0.0001 r:0.495	p:0.009 r:0.296	p:0.043 r:0.228	p:0.008 r:0.297
RANKL	p<0.0001 r:0.551		p:0.005 r:0.289	p<0.0001 r:0.386
OPG	p:0.043 r:0.216	p:0.036 r:0.227		

Çalışmamızda incelenen biyokimyasal parametrelerin kendi aralarındaki korelasyonlara bakıldığında ise sklerostin ile TWEAK arasında (p<0.0001, r=0.697); sklerostin ile RANKL arasında pozitif (p<0.0001, r=0.686); sklerostin ile OPG arasında pozitif (p=0.003, r=0.320), sklerostin ile RANKL arasında (p<0.0001, r=0.686); TWEAK ile OPG arasında (p=0.001, r=0.366) ve de RANKL ile OPG arasında (p=0.04, r= 0.219) çeşitli korelasyonlar tespit edildi (Tablo 4.14.)

Tablo 4.14. Biyokimyasal bulgular arasındaki korelasyonlar

	Sklerostin	TWEAK	RANKL	OPG
Sklerostin	-	p<0.0001 r:0.697	p<0.0001 r:0.686	p:0.003 r:0.320
TWEAK	p<0.0001 r:0.697	-		p:0.001 r:0.366
RANKL	p<0.0001 r:0.686		-	p:0.04 r: 0.219
OPG	p:0.043 r:0.216		p:0.04 r: 0.219	-

5.TARTIŞMA

Dental implant tedavisi, başarı oranı yüksek ve öngörülebilir bir tedavi yöntemi olarak modern diş hekimliğinde uygulanmaktadır. Fakat doğal dişlere benzer şekilde, plağa karşı oluşan cevap sonucu peri-implant hastalıklar oluşabilmektedir (3). Periodontal ve implant çevresi inflamatuvar hastalıklar benzer mekanizmalar sonucu oluşsa da diş ve implant çevresi dokuların anatomik ve histolojik farklılıkları, hastalığa karşı gösterilen dirençte veya hastalık gerçekleştiğinde ilerleme sürecinde farklılıklar göstermektedir (10). İmplant çevresinde bağ dokusu liflerinin implanta atake olmayıp paralel seyrediyor oluşu veya implant çevresi dokuların damarsal desteğinin daha az oluşu, implantların enfeksiyona karşı daha hassas olmasında etkili faktörlerdir (216). Peri-implant hastalığın hızlı ilerliyor oluşu (10) ve peri-implantitis tedavisinde sonuçların öngörülebilirliğinin genel olarak az olması (217) sebebiyle peri-implant inflamasyonun erken dönemde teşhisi, implant tedavisinde başarısızlığı önlemek açısından büyük önem taşımaktadır.

Peri-implantitisin teşhisinde sıklıkla kullanılan cep derinliği ölçümü farklı dayanak veya restorasyon tasarımları nedeniyle zor olabilir veya ölçümler lezyonun ciddiyetini yansıtmayabilir (218). Periodontal ve peri-implant hastalıklarda teşhis amacıyla kullanılan klinik parametelerin subjektifliğine karşılık, daha güvenilir parametreler elde edebilmek adına, DOS veya PİOS'daki biyobelirteçlerin değerlendirilip, hastalık ve sağlık durumlarının ayırt edilmesi önemlidir. DOS, Uitto (193) tarafından “periodonsiyuma bir pencere” olarak tanımlanmış, içeriği periodonsiyumun sağlık durumu hakkında bilgi veren, gingival biyopsilere alternatif, minimal invaziv yöntemlerle elde edilebilen bir biyolojik sıvıdır (193).

Diş ve implant çevresi hastalıklar arası metabolik farklılıkların değerlendirilmesi, bu iki durum için farklı tedavi protokollerinin oluşturulabilmesi için gereklidir. İki hastalıkta da kemik kaybının osteoklast fonksiyonu sonucu gerçekleştiği bilinse de, osteoklastların hastalık sürecine katılımlarını ve aktivasyonlarını etkileyen faktörlerin karşılaştırılmasına ihtiyaç vardır (218). Kemik metabolizmasında ve inflamasyon sonucu kemik kaybında etkisi olduğu bilinen sklerostini (219) ve de otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarla ilişkisi tespit

edilen ve inflamasyon sonucu kemik kaybında etkisi olduğu bilinen TWEAK'i(131) DOS veya PİOS'da inceleyen bir çalışma literatürde mevcut değildir. Sklerostin ve TWEAK'in periodontitis ve peri-implantiste biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek ve bu belirteçlerin RANKL ve OPG gibi DOS ve PİOS'da daha önce çalışılmış belirteçlerle korelasyonunu incelemek bu çalışmanın amaçlarındandır.

Çalışmamıza Hacettepe Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran toplam 91 hasta bulunan 39 diş ve 52 implant dahil edilmiştir. Çalışma kriterlerine uygun olan hastalarda mevcut implanta simetrik dişler, cep derinliklerine göre periodontitis ve periodontal sağlık olmak üzere iki gruba; implantlar cep derinlikleri ve krestal kemiğin seviyesine göre peri-implantitis ve peri-implant sağlık olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Dahil edilen tüm dişlerdeki ve implantlardaki klinik muayene bulguları kayıt edilmiş, her dişin ve implantın dört bölgesinden DOS veya PİOS örnekleri alınmış; sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG içeriği açısından incelenmiştir. Çalışmamıza dahil edilecek olan implantlara sahip bireyler seçilirken sistemik açıdan sağlıklı olmalarına, son 6 ay içinde herhangi bir periodontal tedavi görmemiş olmalarına, örneklemeden önceki üç ay ve örnekleme süresi boyunca çalışma sonuçlarını etkileyebilecek ilaç (gargara, antibiyotik, non-steroidal anti-inflamatuar ilaç ve kortikosteroid) ve sigara kullanmıyor olmalarına dikkat edilmiştir. Böylece çalışma sonuçlarını etkileyebilecek olan parametreler kontrol altına alınarak gruplar arası standardizasyon sağlanmaya çalışılmıştır.

Çalışmanın limitasyonları, diğer kesitsel çalışmalarda olduğu gibi (19, 206) ölçülen parametreler ve hastalık arasında kesin bir sebep sonuç ilişkisi kurulamaması ve aynı hastada periodontitis ve peri-implantitis olan yeterli birey bulunamaması sebebiyle *split mouth* olarak tasarlanamamasıdır.

Çalışmamızın klinik bulguları değerlendirildiğinde kemik kaybını değerlendiren parametrelerin, yani cep derinliği ile dişeti çekilmesinin ve inflamasyonun tespiti için kullanılan parametrelerin, yani dişeti kanama zamanı indeksi ile gingival indeks skorlarının peri-implantitis ve periodontitis gruplarında, periodontal sağlık ve peri-implant sağlık gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı

ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur. Bu faktörlerin tamamı klinik teşhisin doğruluğunu desteklemektedir (179). Plak indeksinin gruplar arası karşılaştırılmasında periodontal sağlık ile periodontitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Bu durum, periodontal hastalıklarda primer etkenin dental plak bakterileri olduğu bilgisiyle uyumludur (63). Plak indeksi açısından peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Çalışmamızda ayrıca peri-implant sağlık ile periodontal sağlık grupları ve peri-implantitis ile periodontitis grupları da kendi aralarında ikili olarak karşılaştırılmıştır. Sağlıklı ve hastalıklı grupların kendi içinde ikili karşılaştırılmasında CD, DÇ, DKZİ ve Gİ parametreleri açısından anlamlı fark bulunmazken, Pİ'nin, peri-implantitis grubunda, periodontitis grubuna göre anlamlı ölçüde düşük olduğu görülmüştür. Pİ'nin implant çevresinde diş çevresinde göre daha yüksek olduğu bulgusu Machtei ve ark (220) ve Pathak ve ark (221) tarafından yapılan çalışmalar ile uyumludur. Bu durum hastaların implant çevresi oral hijyen uygulamalarında daha yüksek motivasyona sahip olmaları (221) ve implant çevresinde plağa karşı verilen cevabın diş çevresine göre daha şiddetli olması (78) sebebiyle plak ile peri-implantitis arasında lineer bir ilişki kurulamıyor olması ile ilgili olabilir.

Çalışmamızda ayrıca DOS ve PİOS'un hacimsel olarak gruplar arası karşılaştırılmasında, sulkusa doğru olan DOS akışının inflamasyon ile beraber artması (188,222) ile uyumlu olarak, DOS hacminin periodontitis grubunda periodontal sağlık duruma göre, PİOS hacminin ise peri-implantitis durumunda peri-implant sağlık durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığı görülmüştür. DOS ve PİOS'un birbirleri ile hacimsel olarak karşılaştırılmasında, peri-implantitis ile periodontitis veya peri-implant sağlık ile periodontal sağlık arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu durum DOS ve PİOS'un benzer mekanizmalar ile oluştuğunu ve ikisinin de inflamasyon sonucu benzer şekilde artış gösterdiğini ortaya koyan klasik bilgi ile uyumludur (7).

Daha önce DOS'un kantitatif proteomik analizinde insan, bakteri ve virus kaynaklı 154 protein çeşidi belirlenmiştir (200). Aktif periodontal hastalık durumunda kemik kaybının sebebi TNF α , IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi inflamatuvar

sitokinlerin fazla veya uzamış sekresyonudur (223). Dolayısıyla hastalık durumunda inflamatuvar sitokinlerin DOS'ta artması beklenir ve daha önce yapılan çalışmaların bulguları da bu yöndedir (174, 224). Bu inflamatuvar sitokinlere IL-1 β (174), IL-6 ve IL-11(224) örnek olarak verilebilir. Ayrıca, kemik kaybı biyobelirteçlerinden MMP-13 (174), MMP-8, RANKL (174) ve sklerostin (27) seviyelerinde de periodontitis varlığında artışlar tespit edilmiştir (27). Periodontitise benzer olarak, peri-implantitis durumunda, PİOS'da IL-1 β (225, 226), IL-6, TNF α (227), IL-8, VEGF (228), PGE₂ (225), RANK, sRANKL, OPG, sklerostin(28) konsantrasyonlarının arttığı gösterilmiştir. DOS ile PİOS'u sağlıklı hastalarda karşılaştırılmış bazı çalışmalar IL-1 β (19), IL-17A(19) ve TNF α 'yı(209) implant çevresinde daha yüksek bulmuştur. DOS ve PİOS'un hastalık durumunda karşılaştırıldığı çalışmalar ise MMP-8'i peri-implantitiste daha yüksek seviyelerde tespit etmiştir (210,211). Son zamanlarda yayınlanan bir çalışmada DOS ve PİOS'daki sRANKL, OPG, IL-17A, IL-17F, IL-17E seviyeleri açısından periodontitis ve peri-implantitis grupları arasında, anlamlı bir fark bulunamamıştır (19).

Çalışmamızda, daha önce DOS ve PİOS'da tespit edilmiş olan kemik yıkımının biyobelirteçlerinden sklerostin (27,28), RANKL(28,174) ve OPG(28)'nin yanı sıra, daha önce DOS veya PİOS'da hiç çalışılmamış olan, fakat serum örneklerinde birçok kez çalışılmış (229-231) ve gingival biyopsi örneklerinde tespit edilmiş (116) olan inflamasyon biyobelirteci TWEAK'in değerleri incelenmiştir. Proinflamatuvar sitokinler, osteoblastlarda ve stromal hücrelerde RANKL ekspresyonunu artırıp OPG ekspresyonunu azaltarak kemik rezorpsiyonunu indüklemektedirler (146). İnflamasyon durumunda kemik kaybının odak noktası olan TNF α 'nın makrofajlardan RANKL sentezini artırdığı gösterilmiştir (223). Periodontitiste, sağlıklı kontrollere göre DOS'taki RANKL oranının belirgin derecede artmış olduğu ilk kez Mogi ve ark (169) tarafından yapılan çalışmada ortaya konulmuştur. Daha sonra Vernal ve ark (172) tarafından yine DOS odaklı yapılan bir çalışmada, tedavi edilmemiş kronik periodontitis grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında periodontitis grubunda daha yüksek RANKL oranı tespit edilmiştir. PİOS'da RANKL ve OPG'yi araştıran ilk çalışma Monov ve ark (232) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma klinik parametreler

ile RANKL ve OPG arasında ilişki bulamasa da yine implant çevresi parametrelerle ve PİOS'la yapılan başka bir çalışmada, Rakic ve ark (206) peri-implantitis ile sağlıklı implantları karşılaştırıldığında peri-implantitis grubunda daha yüksek sRANKL değeri tespit etmiştir. Aynı bireylerden toplanan örneklerle hem DOS'da hem PİOS'da sRANKL konsantrasyonunu araştıran Gürlek ve ark (19) da peri-implantitis ve periodontitisteki sRANKL konsantrasyonunu peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarından daha yüksek olarak bulmuştur. Ayrıca, hastalık durumlarında DOS ve PİOS'daki sRANKL seviyelerini ve sağlık durumlarında DOS ve PİOS'daki sRANKL seviyelerini de kendi aralarında karşılaştırmışlar ve de iki biyolojik sıvı arasında sRANKL seviyeleri açısından anlamlı bir fark bulamamışlardır (19). Çalışmamızda, önceki bu çalışmaların bulgularını destekler nitelikte, RANKL'ın hem peri-implantitiste, peri-implant sağlık durumundan, hem de periodontitiste, periodontal sağlık durumundan istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca Gürlek ve ark (19)'larının yaptığı çalışmayla uyumlu şekilde, hastalık ve sağlık durumlarındaki DOS ile PİOS karşılaştırmasında, bu iki biyolojik sıvı arasında RANKL açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bunlara ek olarak, çalışmamızda RANKL ile cep derinliği, DKZİ ve Gİ arasında korelasyonlar tespit edilmiştir. Peri-implant ve periodontal hastalık durumlarına işaret eden bu klinik parametreler ile RANKL arasında korelasyon tespit edilmesi, önceki çalışmaların bulguları ile uyumludur (19, 169, 206).

RANKL'ın etkisini engelleyerek osteoklast farklılaşmasını inhibe eden OPG (233), Mogi ve ark (169) tarafından periodontal sağlık durumunda, periodontitis durumunda göre DOS'ta belirgin derecede yüksek bulunmuştur. Gürlek ve ark. (19), hem DOS'ta hem de PİOS'da OPG'yi incelemiş, periodontal sağlık durumunda DOS'taki OPG'yi periodontitis durumuna göre; peri-implant sağlık durumunda ise PİOS'daki OPG'yi peri-implantitise göre yüksek bulmuştur. Bu sonuçlardan farklı olarak hem DOS hem PİOS'da OPG'yi inceleyen, Rakic ve ark (206) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise peri-implantitiste peri-implant sağlığa göre, periodontitiste de peri-implant sağlığa göre daha yüksek düzeyde OPG bulunmuştur. Çalışmamızda, OPG'nin peri-implantitis ve periodontitis gruplarında, yani hastalık durumlarında, istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu Rakic ve ark (206) tarafından yapılan çalışma ile

paraleldir. Ayrıca Garlet ve ark (234) tarafından yapılan çalışmada, gingival biyopsi örneklerinde, hastalıklı periodontal dokulardaki OPG miktarı daha yüksek tespit edilmiştir. OPG'nin inflamasyon durumunda da artışı, tek görevinin RANKL fonksiyonu ile ilgili olmayışı ile açıklanabilir. OPG aynı zamanda TRAIL'in de reseptörüdür (235). TRAIL'in ve reseptörlerinin endotel hücrelerinde apoptozisi ve inflamatuvar gen ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (236) Kobayashi-Sakamoto ve ark (159) tarafından yapılan in vitro çalışmada ise, *P.gingivalis*'in endotel hücre dizisinde OPG ekspresyonuna neden olduğu gösterilmiştir. OPG'nin artışındaki bir diğer sebep ise, RANKL ve MMP'ler dokuda yıkıma sebep olurken, IL-10 tarafından OPG'nin artırılması ile, konağın doku yıkımını sınırlayıcı bir mekanizma ortaya koyması olabilir (234). Çalışmamızda OPG'nin klinik bulgulardan CD ve DÇ gibi kemik kaybını gösteren parametreler ile korele olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte DKZİ ve Gİ gibi inflamasyonu gösteren parametreler ile ve Pİ ile bir korelasyon bulunmamıştır. Monov ve ark (232) tarafından yapılan, RANKL ve OPG'nin PİOS'da araştırıldığı çalışmada OPG'nin hiçbir klinik parametre ile korele bulunmadığı belirtilmiştir. Arıkan ve Buduneli (237) hastalıklı ve sağlıklı gruplar oluşturmadan, 79'u sağlıklı olan 86 implanttan topladığı PİOS örneklerinde sRANKL ve OPG'yi araştırmış, sondlamada kanama ve Gİ ile OPG arasında korelasyon bulmuştur. Bu çalışmada sRANKL ile klinik parametreler arasında bir ilişki bulunamaması nedeniyle, OPG'nin implant çevresi için sRANKL'a göre daha umut vaat eden bir parametre olabileceği yorumu yapılmıştır (237). Rakic ve ark (206) ise yine implant çevresi klinik parametreler ile PİOS'daki OPG konsantrasyonunu karşılaştırdıkları zaman, OPG ile cep derinliği, ataçman seviyesi ve sondlamada kanama ile korelasyon tespit ederken Pİ ile korelasyon bulamamışlardır. Çalışmamızda ayrıca hastalık veya sağlık durumlarındaki OPG düzeylerinin DOS ve PİOS arasındaki karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Bu bulgu, Gürlek ve ark (19) tarafından yapılan, aynı bireylerde DOS ile PİOS içeriklerini karşılaştıran çalışma ile uyumludur.

DOS'ta RANKL/OPG oranının araştırıldığı Mogi ve ark (169) tarafından yapılan çalışmada, bu oranın periodontiste periodontal sağlığa göre belirgin ölçüde arttığı sonucu bulunmuştur. Gürlek ve ark (19) da sRANKL/OPG oranını, peri-implantitiste peri-implant sağlığa göre, ayrıca periodontitiste periodontal sağlığa

göre belirgin ölçüde daha yüksek bulmuştur. Balli ve ark. (27), yine DOS örneklerinde RANKL/OPG oranını araştırmış; sağlıklı grupta, periodontitis grubuna göre belirgin ölçüde daha düşük RANKL/OPG oranı tespit etmişlerdir. Rakic ve ark. (206), peri-implantitisi peri-implant sağlık ile karşılaştırmış, PİOS'da sRANKL/OPG oranı açısından gruplar arası anlamlı bir fark bulamamıştır. Aynı çalışma, peri-implantitis ve periodontitis karşılaştırmasında periodontitiste belirgin derecede daha yüksek sRANKL/OPG oranı bulunduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda DOS'taki RANKL/OPG oranı, periodontitis grubunda, periodontal sağlık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Bu durum Mogi ve ark (169), Gürlek ve ark (19) ve Balli ve ark (27) tarafından yapılan çalışmalar ile uyumludur. Çalışmamızda ayrıca PİOS'daki RANKL/OPG oranı peri-implantitis ve peri-implant sağlık grupları arasında karşılaştırıldığında, bu oran açısından iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, Rakic ve ark (206) tarafından yapılan çalışmanın verileri ile uyum sağlamaktadır; fakat bu çalışmadan farklı olarak çalışmamızda peri-implantitis ve periodontitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Çalışmamızın bu bulgusu, son zamanlarda yayınlanmış olan ve Ghighi ve ark (238) tarafından yapılan, peri-implantitiste ile periodontitis gruplarından alınan bağ dokusu biyopsilerindeki RANKL/OPG oranını inceleyen çalışma ile uyumludur. Bu çalışmada da peri-implantitis ve periodontitis grupları arasında RANKL/OPG oranı açısından fark bulunmamıştır (238). Rakic ve ark (206) tarafından yapılmış olan çalışma, periodontitis grubunda, peri-implantitis ve peri-implant sağlık gruplarına göre daha yüksek RANKL/OPG oranı bulunduğunu vurgulamıştır. Çalışmamızda da periodontitis grubunun RANKL/OPG oranı değerlerinde peri-implantitis ve peri-implant sağlık gruplarına göre hafif bir artış görülse de, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Örneklem sayısının çoğaltılması ile farkın anlamlılık kazanıp kazanmayacağı, gelecekte yapılacak çalışmalar ile değerlendirilebilir. Çalışmamızda RANKL/OPG oranında tespit edilen bir diğer anlamlı bulgu ise peri-implant sağlık ile periodontal sağlık grupları arasındadır. Peri-implant sağlık grubunda, periodontal sağlık durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek RANKL/OPG oranı tespit edilmiştir.

RANKL/OPG oranlarının periodontal tedavi ve hastalık yaygınlığı ile ilişkisi karşılaştırıldığında çalışmaların sonuçları arasında uyumsuzluk dikkat çekmektedir. Mogi ve ark (169) tarafından yapılan çalışmada, periodontitiste artmış olarak bulunan RANKL/OPG oranının, hastalık yaygınlığı ile negatif bir korelasyon gösterdiği görülmüştür. Yani hafif periodontitis durumunda, ileri periodontitise göre daha yüksek RANKL/OPG oranı bulunmuştur (169). Buna karşılık, RANKL/OPG oranı ile hastalık yaygınlığı arasında pozitif korelasyon olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur (172, 239). RANKL/OPG oranları ile periodontal hastalık ilişkisi arasındaki bu farklılıklar, periodontitisin episodik karakterinden kaynaklanabilirler (240). Periodontal inflamasyonda kemik remodelasyonunun yönü RANKL ve OPG gibi kemik metabolizmasında görevli mediyatörler tarafından belirlendiğinden, OPG'nin, RANKL'ın rezorptif etkisini antagonize eder biçimde arttığı dönemler, hastalığın remisyon dönemleri olabilir. Silva ve ark (241) tarafından gingival biyopsi örnekleri ile yapılan çalışmada, aktif periodontal hastalık bölgelerinde inaktif bölgelere göre daha yüksek RANKL aktivitesi olduğu vurgulanmıştır. Kronik periodontitisin tedavisi sonrasında RANKL/OPG azalmış, değişmemiş veya artmış olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (175, 176). Hem Bostancı ve ark (176), hem de Balli ve ark (27) tarafından yapılan, bu oranın periodontal tedavi ile değişimini araştıran çalışmalar benzer sonuçlar elde etmiştir. İki çalışmada da periodontitis gruplarında sağlıklı gruba göre daha yüksek RANKL/OPG oranı tespit edilmesine rağmen, cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası, sonuçlar klinik olarak başarılı bulunduğu halde RANKL/OPG oranında azalma olmadığı gözlemlenmiştir (27, 176). Aynı çalışmada sklerostin oranlarını da araştıran Balli ve ark. (27), sklerostinin cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası periodontitis grubunda azaldığını, bu yüzden RANKL/OPG oranına göre tedavi seyri açısından daha güvenilir bir biyobelirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir. Belibasakis ve ark (242) tarafından hazırlanan derlemede, RANKL/OPG oranının, periodontitis varlığının teşhisinde iyi bir belirteç olabileceği fakat hastalık yaygınlığı veya tedavi başarısını gösteren “klasik” bir belirteç olamayacağı yorumu yapılmıştır. Duarte ve ark (243) tarafından hazırlanan derlemede ise, peri-implantitis ve peri-implant sağlık durumlarında PİOS'daki RANKL/OPG oranını karşılaştıran dört yayından (28,

205, 206, 244) üç tanesinde (28, 205, 206) gruplar arasında anlamlı fark bulunamadığından, RANKL/OPG oranının peri-implant hastalık durumunun teşhisinde kullanılması için yeterli kanıt olmadığı yorumu yapılmıştır.

TLR4/NF-K β ve Wnt/ β -katenin yolları, kendi fonksiyonları gereği birbirleri ile etkileşim içerisindedirler (245). Bunlar arasındaki kompleks etkileşimler, çeşitli inflamatuvar hastalıklar, immünolojik hastalıklar ve kanser gibi durumların oluşumunu ve gelişimini etkiler (245). Periodontal veya peri-implant inflamasyonun temel kaynağının bakteri olduğu bilinmektedir (11). Bakteri lipopolisakkaritlerinin TLR4/NF-K β yolağını aktifleştirdiği bilgisi (246), TLR4/NF-K β aktivasyonunun kanonik Wnt/ β -katenin sinyalizasyonunu baskıladığı bilgisiyle birleştirildiğinde (245), periodontal inflamasyon sonucu oluşan kemik kaybını açıklayan alternatif bir mekanizma ortaya konulabilir. Wnt/ β -katenin sinyalizasyonunun inhibitörü olan sklerostinin, inflamatuvar/otoimmün hastalıklarda artış gösterdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiş olup (219, 247) periodontitiste sklerostin varlığını araştıran çalışmalar da hastalık durumunda sklerostin oranında artış olduğunu tespit etmiştir (27, 29). Balli ve ark (27) DOS'taki sklerostini sağlıklı ve periodontitisli bölgelerde incelemiş, periodontitis bulunan bölgelerde belirgin ölçüde daha yüksek sklerostin oranı tespit etmiş, ayrıca tedaviden sonra bu oranın azaldığını ortaya koymuşlardır (27). Rakic ve ark (28) tarafından yapılan çalışmada ise PİOS'daki sklerostinin, peri-implantitis durumunda, peri-implant sağlık veya peri-implant mukositis durumunda göre belirgin artış gösterdiği ortaya konulmuştur (28). Sklerostinin, kemiği etkileyen inflamatuvar hastalıklarda arttığını gösteren çalışmalara karşın, son zamanlarda yayınlanmış bir meta-analizde (248), ankilozan spondilit ve romatoid artrit hastalarının serum sklerostin seviyelerinde, kontrol gruplarına göre anlamlı bir fark bulunmadığı belirtilmiştir. Çalışmamızda peri-implantitis ile peri-implant sağlık gruplarındaki sklerostin düzeyleri karşılaştırıldığında, sklerostin peri-implantitis grubunda anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Bu sonuç sklerostinin peri-implantitis teşhisinde biyobelirteç olarak kullanılabilme potansiyeli olduğunu göstermektedir. Fakat periodontitis ile periodontal sağlık grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Diğer yandan çalışmamızda en düşük sklerostin değeri peri-implant sağlık grubunda tespit edilmiştir. Bu düşük

değer dental implantlar ve dişler arasındaki en önemli anatomik farklılıklardan biri olan implantlar çevresinde periodontal ligamentin bulunmayışı ile açıklanabilir. Bu bulguyu destekler şekilde 2010 yılında Jager ve ark (249) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada mineralize periodontal ligament hücre kültürlerinde artan sklerostin mRNA ekspresyonu ve protein translasyonu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sklerostin düzeyleri değerlendirilirken sklerostinin, kemiğe uygulanan mekanik stresteeki rolü de unutulmamalıdır. Osteositler mekanik strese cevap veren hücrelerdir. Stimüle edilmeleri kemik homeostazı için gereklidir (250). Kemiğin mekanik olarak yüklenmesinin osteositlerden sentezlenen sklerostin düzeyini düşürdüğü, dolayısıyla kemik oluşumunu stimüle ettiği in vivo olarak gösterilmiştir (102). Kemiğe gelen optimal düzeyde kuvvetlerin kemik oluşumunu stimüle ettiği bilgisi (251), dental implantolojideki “hemen yükleme” kavramının mantıksal temelini oluşturmaktadır (252). Bununla beraber, kemik-implant ara yüzüne gelebilecek aşırı kuvvetlerin kemikte rezorptif etki yapmakta olduğu, dental implantolojide bilinen bir konudur (253). Yakın zamanda yayınlanmış, Diao ve ark (254) tarafından yapılan bir çalışmada, tavşanlara uygulanan implantlara osseointegrasyon sonrası ani travma uygulanmış, bunun sonucunda ilk 14 gün gerçekleşen rezorpsiyon döneminde RANKL ve sklerostin’in arttığı, daha sonraki iyileşme periyodunda ise 28. gün itibarıyla RANKL ve sklerostin seviyelerinin kontrol grubuna benzer düzeylere düştüğü gösterilmiştir. Doğal dişlerin çevresinde bulunan periodontal ligament, dişlere gelen kuvvetleri absorbe edici etki gösterirken, implantlar etrafında bu yapının bulunmuyor oluşu, kemik-implant ara yüzüne gelen kuvvetlerin dişlerden daha yüksek düzeyde olmasına sebep olmaktadır (255). Normal kemikte sklerostin’in sadece matür osteositler tarafından sentezlendiği vurgulanmış olsa da (94), sklerostinin inflamasyon durumunda osteoblastlar tarafından mRNA düzeyinde sentezlenebildiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (256, 257). Dolayısıyla çalışmamızda sklerostin’in inflamasyon durumunda artış göstermesi sonucu peri-implant sağlık durumu ile peri-implantitis ve periodontitis grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bir boyuta ulaşmış olabilir. Ayrıca protetik yüklemenin implantlardaki sklerostin düzeyleri üzerine olan etkisi de uzun dönem takip çalışmaları ile araştırılmalıdır.

Sklerostin'in dental implantlarda mekanik kuvvetler ile ilişkisi açıklığa kavuşturulursa, implantların protetik olarak yüklenmesinde optimal kuvvet düzeyinin belirlenmesi için bir biyobelirteç olup olamayacağı da incelenebilir.

Wnt sinyalizasyon yolağı ile ilgili yapılan ilk çalışmalar, bu yolağın etkisini osteoblastlar üzerinden gösterdiğini belirtse de, daha sonra yapılan çalışmalarda Wnt sinyalizasyonunun RANKL'ı *downregule*, OPG'yi *upregule* ederek, osteoklast farklılaşması üzerinden de etki göstermekte olduğunu ortaya koymuştur (258, 259) Yani NF-K β yolağı Wnt sinyalizasyonunu pozitif ve negatif olarak regüle ederken, Wnt sinyalizasyonu da NF-K β yolağını etkilemektedir (260) Balli ve ark (27) tarafından yapılan çalışmada, bu durum ile uyumlu olarak, DOS'ta sklerostin ile RANKL arasında pozitif, sklerostin ile OPG arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Çalışmamızda bu verilerle tutarlı olacak şekilde sklerostin ve RANKL arasında pozitif korelasyon bulunmuş; ayrıca bu korelasyona ek ve önceki çalışmadan (27) farklı olarak sklerostin ve OPG arasında da pozitif korelasyon tespit edilmiştir.

Bir biyobelirtecin sahip olması gereken özellikler duyarlılık, spesifiklik, pozitif ve negatif prediktif değerlere sahip olmasıdır (261) TWEAK'ın tıp alanında biyobelirteç olarak kullanımını araştıran çalışmalar (122, 128, 262) TWEAK'ın inflamatuvar durumlarda vücut sıvılarında artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Örneğin Schwartz ve ark. (263), lupus nefritinde üriner TWEAK'ın artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Periodontitise benzer şekilde, inflamasyonla beraber kemik kaybının görüldüğü bir hastalık olan romatoid artrit de serum TWEAK seviyesinde artış olduğu Park ve ark (122) tarafından gösterilmiştir. Perper ve ark (264) tarafından yapılan, farede kollajen ile indüklenen artrit modelinde, TWEAK'ın inflamatuvar kemik remodelasyonunda önemli rol oynadığı ve artrit, serum TWEAK seviyelerinde artış olduğu gösterilmiştir. TWEAK eksikliği olan farede iskeletsel anomalilerin görülmüyor oluşu (128), TWEAK'ın kemik üzerindeki etkisinin inflamatuvar mekanizmalar ile ilişkili olduğunu ve inflamatuvar hastalıklar için iyi bir biyobelirteç olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Periodontal dokularda TWEAK varlığını ilk defa inceleyen çalışma, Hosokawa ve ark (116) tarafından gerçekleştirilmiştir. Sağlıklı dişeti biyopsilerinde, dört

örnekten bir tanesinde oldukça düşük konsantrasyonda TWEAK tespit edilirken periodontitisli bölgelerden alınan dokuz örnekten yedi tanesinde TWEAK tespit edilebilmiştir. Daha sonra Kataria ve ark (30) tarafından yapılan çalışmada dişeti biyopsilerinde TWEAK konsantrasyonları incelenmiş, immünohistokimyasal incelemede yüksek inflamatuvar skorlara sahip dokularda daha yüksek TWEAK düzeyleri bulunduğu bildirilmiştir. Bu dokularda TWEAK'in kaynağının mononükleer lökositler olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmada ayrıca TWEAK'in inflamasyon ile korele olduğu belirtilirken, cep derinliği ile TWEAK arasında korelasyon bulunamamıştır (30). Çalışmamızda TWEAK'in hem peri-implantitiste peri-implant sağlık grubuna göre, hem de periodontitiste periodontal sağlık durumuna göre daha yüksek bulunmuş olması, ayrıca TWEAK'in cep derinliği ve dişeti çekilmesi gibi kemik kaybı bulgularıyla; DKZİ ve Gİ gibi inflamasyon bulgularıyla korele bulunmuş olması, periodontal ve peri-implant hastalık açısından iyi bir biyobelirteç olabileceğini ortaya koymaktadır.

İmplantın başlangıç remodelasyonundan sonra gerçekleşen kemik kaybı genellikle bakteri ile ilişkili bulunmaktadır (218). Peri-implantitiste de periodontitis gibi genellikle gram negatif anaerobik bakteriler baskındır ve kırmızı kompleks bakterilerin varlığı ile peri-implantitis varlığı arasında yüksek oranda ilişki bulunduğu gösterilmiştir (265). Peri-implantitis ile periodontitisin biyofilm yapıları karşılaştırıldığında genel olarak benzer oldukları (11), fakat implantın yüzey pürüzlülüğünün neden olduğu bazı farklılıklar olduğu belirtilmiştir (266). Sağlıklı dental implantlar ile sağlıklı dişler arasındaki anatomik farklılıklar, bu iki yapının arasında metabolik farklılıklar olabileceğini düşündürmektedir. Bu hipotezi test eden bazı çalışmalar DOS ve PİOS'u karşılaştırmaya yönelmiştir. İki biyolojik sıvının genel olarak benzer olduğunu gösteren çalışmaların yanında (7, 267) bazı farklılıklar bulan çalışmalar da mevcuttur (8, 19, 209). Bizim çalışmamızda bakılan biyokimyasal parametreler açısından sadece RANKL/OPG oranında, peri-implant sağlık ve periodontal sağlık gruplarından toplanan PİOS ile DOS'lar arasında fark bulunmuş, sklerostin, TWEAK, RANKL veya OPG'ye tek tek bakıldığında peri-implant sağlık ile periodontal sağlık veya peri-implantitis ile periodontitis gruplarının PİOS ile DOS karşılaştırmaları arasında fark bulunamamıştır. RANKL/OPG oranını sağlıklı implantlar ve dişlerde, PİOS ile DOS'taki

konsantrasyonları açısından değerlendiren tek çalışma Gürlek ve ark (19) tarafından yapılmış olup, bu çalışmada da implant ve dişler arasında, bu oran açısından, anlamlı bir fark tespit edilememiştir. İmplant ve diş arasındaki anatomik farklılıkların ötesinde, implant yerleştirilmiş olan bölgenin uğradığı cerrahi travma sonucu, bu bölgedeki dokuların sağlıklı dişlerden farklı olarak “skar dokusu” özelliğinde olmaları da iki yapı arasındaki farklardandır (268). Daha önceki çalışmaların sonuçlarında yer alan, periodontitis tedavisi sonrası RANKL/OPG oranının azalmadığı bulgusu (27, 176), mekanik veya bakteriyel travmaya uğramış bölgenin, sağlıklı dokudan metabolik olarak farklı olmasının bir sonucu olabilir.

PİOS ve DOS'ta kemik metabolizmasının dört ürününü bir arada inceleyen araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde TWEAK'in periodontal ve peri-implant hastalık açısından iyi bir biyobelirteç olabileceği ve ileri çalışmalarla peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık doku TWEAK düzeylerinin belirlenmesinin bu bulguları desteklemek açısından önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Diğer yandan sklerostinin peri-implantitis grubunda peri-implant sağlık grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunması da peri-implant hastalık teşhisi açısından potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir. TWEAK ve sklerostinin periodontal ve peri-implant dokuların takibinde kullanılacak biyobelirteçler olarak kabul edilebilmeleri için uzun dönemli takip çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Esas olarak peri-implantitis, peri-implant sağlık, periodontitis ve periodontal sağlık durumlarında PİOS ve DOS sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG düzeylerini belirlemeyi ve bu düzeyleri birbirleri ile karşılaştırmayı, bu sayede sklerostin ve TWEAK'in peri-implant ve periodontal sağlık durumlarında biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini araştırmayı hedefleyen çalışmamızda;

1. Peri-implantitis grubunda ölçülen CD, DKZİ, Gİ ve DOS hacim değerleri peri-implant sağlık grubuna göre; benzer şekilde periodontitis grubunda ölçülen CD, DKZİ, Gİ ve DOS hacim değerleri periodontal sağlık grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.
2. Sklerostin düzeyleri peri-implant sağlık grubunda, peri-implantitis grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Bu sonuç sklerostinin peri-implantitis teşhisinde biyobelirteç olarak kullanılabilme potansiyeli olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda sklerostinin peri-implant sağlık durumunda diğer gruplara göre düşük olması, iltihap yokluğu ile beraber periodontal ligament olmayışı ile açıklanabilir. Yükleme sonucu gerçekleşen kemik stimülasyonu ile sklerostin düzeyinin ilişkisinin uzun dönem takip içeren çalışmalar ile incelenmesinin gerektiği düşünülmektedir.
3. Peri-implantitis grubunda peri-implant sağlık grubuna göre; periodontitis grubunda ise periodontal sağlık grubuna göre anlamlı derecede yüksek düzeyde TWEAK, RANKL ve OPG tespit edilmiştir. Bu belirteçlerin PİOS ve DOS'ta tespit edilmesi, peri-implant ve periodontal hastalığın tespiti için iyi birer göstere olabileceklerini düşündürmektedir.
4. PİOS veya DOS'ta ilk defa incelenen TWEAK'in, kemik kaybının ve inflamasyonun klinik parametreleri ile korele oluşu, bu parametrenin peri-implant ve periodontal hastalığın teşhisinde kullanılabilir iyi bir biyobelirteç olabileceği sonucunu ortaya koymaktadır. İleride yapılacak çalışmalarda, çalışma dizaynına peri-implant mukositis ve gingivitis gruplarının eklenmesi, immünohistokimyasal incelemelerle doku

TWEAK düzeylerinin tespit edilmesi ile bu parametrenin biyobelirteç olarak belirlenmesi için daha detaylı sonuçlar elde edilebilir.

5. RANKL/OPG oranının periodontitis grubunda, periodontal sağlık grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek oluşu periodontal hastalık teşhisinde kullanımının geçerliliğini destekleyen bir bulgudur. Ayrıca bu oranın peri-implant sağlık durumunda periodontal sağlık durumuna göre anlamlı ölçüde yüksek oluşu peri-implant ve periodontal dokular arasındaki metabolik farklılıkların varlığına dikkat çekmektedir. Konak tarafından implanta verilen cevabın daha iyi anlaşılması için bu metabolik farklılıkların daha fazla biyokimyasal parametre açısından incelenerek değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Smeda-Pienaar K, Kaambo E, Africa CWJ. Bacterial morphotype grading for periodontal disease assessment. *Bdj Open*. 2017;3:16011.
2. Mattheos N, Albrektsson T, Buser D, De Bruyn H, Donos N, Hjorting Hansen E, et al. Teaching and assessment of implant dentistry in undergraduate and postgraduate education: a European consensus. *European Journal of Dental Education*. 2009;13 Suppl 1:11-7.
3. Boyle PE. The Etiology of Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*. 1953;24(4):242-7.
4. Genco RJ. Current View of Risk Factors for Periodontal Diseases. *Journal of Periodontology*. 1996;67(10s):1041-9.
5. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *Journal of Periodontology*. 2008;79(8 Suppl):1560-8.
6. Eke PI, Braswell LD, Fritz ME. Microbiota Associated With Experimental Peri-Implantitis and Periodontitis in Adult *Macaca mulatta* Monkeys. *Journal of Periodontology*. 1998;69(2):190-4.
7. Nogueira-Filho G, Pesun I, Isaak-Ploegman C, Wijegunasinghe M, Wierzbicki T, McCulloch CA. Longitudinal Comparison of Cytokines in Peri-Implant Fluid and Gingival Crevicular Fluid in Healthy Mouths. *Journal of Periodontology*. 2014;85(11):1582-8.
8. Nowzari H, Phamduong S, Botero JE, Villacres MC, Rich SK. The profile of inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid around healthy osseointegrated implants. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2012;14(4):546-52.
9. Albouy JP, Abrahamsson I, Persson LG, Berglundh T. Spontaneous progression of peri-implantitis at different types of implants. An experimental study in dogs. I: clinical and radiographic observations. *Clinical Oral Implants Research*. 2008;19(10):997-1002.
10. Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljenberg B, Marinello C. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clinical Oral Implants Research*. 1992;3(1):9-16.
11. Takahashi N. Microbial ecosystem in the oral cavity: Metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases. *International Congress Series*. 2005;1284(Supplement C):103-12.
12. Bickel M, Cimasoni G. The pH of human crevicular fluid measured by a new microanalytical technique. *Journal of Periodontal Research*. 1985;20(1):35-40.

13. Zitzmann NU, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J. Experimental peri-implant mucositis in man. *Journal of Clinical Periodontology*. 2001;28(6):517-23.
14. Lang NP, Bragger U, Walther D, Beamer B, Kornman KS. Ligature-induced peri-implant infection in cynomolgus monkeys. I. Clinical and radiographic findings. *Clinical Oral Implants Research*. 1993;4(1):2-11.
15. Ericsson I, Berglundh T, Marinello C, Liljenberg B, Lindhe J. Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clinical Oral Implants Research*. 1992;3(3):99-103.
16. Schou S, Holmstrup P, Reibel J, Juhl M, Hjorting-Hansen E, Kornman KS. Ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth: stereologic and histologic observations in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal of Periodontology*. 1993;64(6):529-37.
17. Li JY, Wang H-L. Biomarkers Associated With Periimplant Diseases. *Implant Dentistry*. 2014;23(5):607-11.
18. Loe H, Holm-Pedersen P. Absence and Presence of Fluid From Normal and Inflamed Gingivae. *Periodontics*. 1965;3:171-7.
19. Gürlek Ö, Gümüş P, Nile CJ, Lappin DF, Buduneli N. Biomarkers and Bacteria Around Implants and Natural Teeth in the Same Individuals. *Journal of Periodontology*. 2017;88(8):752-61.
20. Dursun E, Tozum TF. Peri-Implant Crevicular Fluid Analysis, Enzymes and Biomarkers: a Systemetic Review. *Journal of Oral & Maxillofacial Research*. 2016;7(3):e9.
21. Wang HL, Garaicoa-Pazmino C, Collins A, Ong HS, Chudri R, Giannobile WV. Protein biomarkers and microbial profiles in peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*. 2016;27(9):1129-36.
22. Tozum TF, Akman AC, Yamalik N, Tulunoglu I, Turkyilmaz I, Karabulut E, et al. Analysis of the inflammatory process around endosseous dental implants and natural teeth: myeloperoxidase level and nitric oxide metabolism. *The International Journal of Oral & Maxillofacial İmplants*. 2007;22(6):969-79.
23. Balemans W, Ebeling M, Patel N, Van Hul E, Olson P, Dioszegi M, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Human Molecular Genetics*. 2001;10(5):537-43.
24. Park JS, Kwok SK, Lim MA, Oh HJ, Kim EK, Jhun JY, et al. TWEAK promotes osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis. *The American Journal of Pathology*. 2013;183(3):857-67.

25. Brunkow ME, Gardner JC, Van Ness J, Paepfer BW, Kovacevich BR, Proll S, et al. Bone dysplasia sclerosteosis results from loss of the SOST gene product, a novel cystine knot-containing protein. *American Journal of Human Genetics*. 2001;68(3):577-89.
26. Robinson JA, Chatterjee-Kishore M, Yaworsky PJ, Cullen DM, Zhao W, Li C, et al. Wnt/beta-catenin signaling is a normal physiological response to mechanical loading in bone. *The Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(42):31720-8.
27. Balli U, Aydogdu A, Dede FO, Turer CC, Guven B. Gingival Crevicular Fluid Levels of Sclerostin, Osteoprotegerin, and Receptor Activator of Nuclear Factor-kappaB Ligand in Periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2015;86(12):1396-404.
28. Rakic M, Struillou X, Petkovic-Curcin A, Matic S, Canullo L, Sanz M, et al. Estimation of bone loss biomarkers as a diagnostic tool for peri-implantitis. *Journal of Periodontology*. 2014;85(11):1566-74.
29. Napimoga MH, Nametala C, da Silva FL, Miranda TS, Bossonaro JP, Demasi AP, et al. Involvement of the Wnt-beta-catenin signalling antagonists, sclerostin and dickkopf-related protein 1, in chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2014;41(6):550-7.
30. Kataria NG, Bartold PM, Dharmapatni AA, Atkins GJ, Holding CA, Haynes DR. Expression of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) and its receptor, fibroblast growth factor-inducible 14 protein (Fn14), in healthy tissues and in tissues affected by periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2010;45(4):564-73.
31. Buduneli N, Kinane DF. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2011;38 Suppl 11:85-105.
32. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*. 2001;142(12):5050-5.
33. Baltacıoğlu E, Kehribar MA, Yuva P, Alver A, Atagün ÖS, Karabulut E, et al. Total Oxidant Status and Bone Resorption Biomarkers in Serum and Gingival Crevicular Fluid of Patients With Periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2013;85(2):317-26.
34. Santos VR, Lima JA, Gonçalves TED, Bastos MF, Figueiredo LC, Shibli JA, et al. Receptor Activator of Nuclear Factor-Kappa B Ligand/Osteoprotegerin Ratio in Sites of Chronic Periodontitis of Subjects With Poorly and Well-Controlled Type 2 Diabetes. *Journal of Periodontology*. 2010;81(10):1455-65.

35. Kim JH, Lee DE, Cha JH, Bak EJ, Yoo YJ. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and sclerostin expression in osteocytes of alveolar bone in rats with ligature-induced periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2014;85(11):e370-8.
36. Lindhe J, Karring T, Araujo M. *Anatomy of Periodontal Tissues*. Lang NP, Lindhe J. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. John Wiley & Sons, West Sussex; 2015. s. 3-47.
37. Balic A, Thesleff I. *Tissue Interactions Regulating Tooth Development and Renewal*. *Current Topics in Developmental Biology*, 115, Elsevier; 2015. s. 157-186.
38. Colard T, Falgayrac G, Bertrand B, Naji S, Devos O, Balsack C, Penel G. New Insights on the Composition and the Structure of the Acellular Intrinsic Fiber Cementum by Raman Analysis. *Plos One*. 2016;11(12):e0167316.
39. Chu TMG, Liu SSY, Babler WJ. *Craniofacial Biology, Orthodontics and Implants*. Basic and Applied Bone Biology, Elsevier; 2013.
40. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1976;34(3):235-49.
41. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *Journal of Periodontology*. 1993;64(5 Suppl):474-84.
42. Parr GR. *Tissue-integrated prostheses: Osseointegration in clinical dentistry*: Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. Chicago, 1985, Quintessence Publishing Company.
43. Brånemark PI, Breine U, Adell R, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson Å. Intra-Osseous Anchorage of Dental Prostheses: I. Experimental Studies. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery*. 1969;3(2):81-100.
44. Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1991;25(7):889-902.
45. Jemat A, Ghazali MJ, Razali M, Otsuka Y. Surface Modifications and Their Effects on Titanium Dental Implants. *BioMed Research International*. 2015;2015:791725.
46. Berglundh T, Lindhe J, Marinello C, Ericsson I, Liljenberg B. Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*. 1992;3(1):1-8.

47. Salvi GE, Aglietta M, Eick S, Sculean A, Lang NP, Ramseier CA. Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clinical Oral Implants Research*. 2012;23(2):182-90.
48. Ramanauskaite A, Juodzbaly G. Diagnostic Principles of Peri-implantitis: A Systematic Review and Guidelines for Peri-implantitis Diagnosis Proposal. *Journal of Oral&Maxillofacial Research*. 2016;7(3):e8
49. Vandana K, Dalvi P, Nagpal D. Management of peri-implant infections. *Journal of the International Clinical Dental Research Organization*. 2015;7(3):160-79.
50. Mellado-Valero A, Buitrago-Vera P, Sola-Ruiz MF, Ferrer-Garcia JC. Decontamination of dental implant surface in peri-implantitis treatment: a literature review. *Medicina Oral, Patologia Oral Y Cirugia Bucal*. 2013;18(6):e869-76.
51. Renevert S, Giovannoli JL. Diagnosis. Renevert S, Giovannoli JL, Peri-implantitis. France, Quintessence International; 2012. s. 20.
52. Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1981;52(2):155-70.
53. Brånemark P-I, Chien S. The osseointegration book: From calvarium to calcaneus: Quintessence Publishing Company; 2005.
54. Xiao G, Cui Y, Ducy P, Karsenty G, Franceschi RT. Ascorbic Acid-Dependent Activation of the Osteocalcin Promoter in MC3T3-E1 Preosteoblasts: Requirement for Collagen Matrix Synthesis and the Presence of an Intact OSE2 Sequence. *Molecular Endocrinology*. 1997;11(8):1103-13.
55. Schroeder A, van der Zypen E, Stich H, Sutter F. The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *Journal of Maxillofacial Surgery*. 1981;9(1):15-25.
56. Fiorellini J, Wada K, Stathopoulou P, Klokkevold PR. Periimplant Anatomy, Biology and Function. Newman MG, Klokkevold PR, Takei HH, Elsevier; 2015. s. 684-692.
57. Chavrier C, Couble ML, Hartmann DJ. Qualitative study of collagenous and noncollagenous glycoproteins of the human healthy keratinized mucosa surrounding implants. *Clinical Oral Implants Research*. 1994;5(3):117-24.

58. Rodriguez X, Navajas A, Vela X, Fortuno A, Jimenez J, Nevins M. Arrangement of Peri-implant Connective Tissue Fibers Around Platform-Switching Implants with Conical Abutments and Its Relationship to the Underlying Bone: A Human Histologic Study *The International Journal of Periodontics*. 2016;36(4):533-540
59. Carranza FA, Itoiz ME, Cabrini RL, Dotto CA. A study of periodontal vascularization 10 different laboratory animals. *Journal of Periodontal Research*. 1966;1(2):120-8.
60. Berglundh T, Lindhe J, Jonsson K, Ericsson I. The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *Journal of Clinical Periodontology*. 1994;21(3):189-93.
61. Bonte B, van Steenberghe D. Masseteric post-stimulus EMG complex following mechanical stimulation of osseointegrated oral implants. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1991;18(3):221-9.
62. Lindhe J, Hamp S, Loe H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *Journal of Periodontal Research*. 1973;8(1):1-10.
63. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis In Man. *Journal of Periodontology*. 1965;36:177-87.
64. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 1979;6(5):351-82.
65. Socransky SS. Microbiology of periodontal disease -- present status and future considerations. *Journal of Periodontology*. 1977;48(9):497-504.
66. Seymour GJ. Possible mechanisms involved in the immunoregulation of chronic inflammatory periodontal disease. *Journal of Dental Research*. 1987;66(1):2-9.
67. Genco RJ, Van Dyke TE, Levine MJ, Nelson RD, Wilson ME. 1985 Kreshover lecture. Molecular factors influencing neutrophil defects in periodontal disease. *Journal of Dental Research*. 1986;65(12):1379-91.
68. Newman MG, Socransky SS, Savitt ED, Propas DA, Crawford A. Studies of the microbiology of periodontosis. *Journal of Periodontology*. 1976;47(7):373-9.
69. Mackler BF, Frostad KB, Robertson PB, Levy BM. Immunoglobulin bearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*. 1977;12(1):37-45.
70. Seymour GJ, Berglundh T, Trombelli L. Pathogenesis of Periodontitis. Lang NP, Lindhe J. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. John Wiley&Sons, West Sussex; 2015. s. 256-269.

71. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology* 2000. 1997;14:9-11.
72. Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. *Periodontology* 2000. 2010;53:167-81.
73. Leonhardt A, Renvert S, Dahlen G. Microbial findings at failing implants. *Clinical Oral Implants Research*. 1999;10(5):339-45.
74. Javed F, Al-Hezaimi K, Salameh Z, Almas K, Romanos GE. Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine*. 2011;53(1):8-12.
75. Zitzmann NU, Berglundh T, Ericsson I, Lindhe J. Spontaneous progression of experimentally induced periimplantitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(10):845-9.
76. Tzach-Nahman R, Mizraji G, Shapira L, Nussbaum G, Wilensky A. Oral infection with *Porphyromonas gingivalis* induces peri-implantitis in a murine model: Evaluation of bone loss and the local inflammatory response. *Journal of Clinical Periodontology*. 2017;44(7):739-48.
77. Berglundh T, Zitzmann NU, Donati M. Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? *Journal of Clinical Periodontology*. 2011;38 Suppl 11:188-202.
78. Carcuac O, Berglundh T. Composition of human peri-implantitis and periodontitis lesions. *Journal of Dental Research*. 2014;93(11):1083-8.
79. Takahashi N, Maeda K, Ishihara A, Uehara S, Kobayashi Y. Regulatory mechanism of osteoclastogenesis by RANKL and Wnt signals. *Frontiers in bioscience*. 2011;16:21-30.
80. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*. 2012;39(3):239-48.
81. Schepetkin I. Osteoclastic Bone Resorption: Normal and Pathological. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1997;832(1):170-93.
82. Harada S-i, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature*. 2003;423(6937):349-55.
83. Pavalko FM, Norvell SM, Burr DB, Turner CH, Duncan RL, Bidwell JP. A model for mechanotransduction in bone cells: the load-bearing mechanosomes. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2003;88(1):104-12.
84. Mosekilde L. Consequences of the remodelling process for vertebral trabecular bone structure: a scanning electron microscopy study (uncoupling of unloaded structures). *Bone and Mineral*. 1990;10(1):13-35.

85. Ducky P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell*. 2000;100(2):197-207.
86. Khosla S. Editorial: Leptin—Central or Peripheral to the Regulation of Bone Metabolism? *Endocrinology*. 2002;143(11):4161-4.
87. Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, et al. Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*. 1997;89(5):755-64.
88. Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, Zhang Z, Deng JM, Behringer RR, et al. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell*. 2002;108(1):17-29.
89. Little RD, Carulli JP, Del Mastro RG, Dupuis J, Osborne M, Folz C, et al. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *American Journal of Human Genetics*. 2002;70(1):11-9.
90. Goldring SR, Goldring MB. Eating bone or adding it: the Wnt pathway decides. *Nature Medicine*. 2007;13(2):133-4.
91. van Bezooijen RL, Svensson JP, Eefting D, Visser A, van der Horst G, Karperien M, et al. Wnt but not BMP signaling is involved in the inhibitory action of sclerostin on BMP-stimulated bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2007;22(1):19-28.
92. van Bezooijen RL, ten Dijke P, Papapoulos SE, Lowik CW. SOST/sclerostin, an osteocyte-derived negative regulator of bone formation. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2005;16(3):319-27.
93. Beighton P. Sclerosteosis. *Journal of Medical Genetics*. 1988;25(3):200-3.
94. Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Lowik CW, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB journal*. 2005;19(13):1842-4.
95. McNulty MS, Bedell VM, Greenwood TM, Craig TA, Ekker SC, Kumar R. Expression Of Sclerostin In The Developing Zebrafish (*Danio*) Brain And Skeleton. *Gene Expression Patterns*. 2012;12(7-8):228-35.
96. van Bezooijen RL, Roelen BA, Visser A, van der Wee-Pals L, de Wilt E, Karperien M, et al. Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist. *The Journal of Experimental Medicine*. 2004;199(6):805-14.
97. Pearce JJ, Penny G, Rossant J. A mouse cerberus/*Dan*-related gene family. *Developmental Biology*. 1999;209(1):98-110.

98. Kusu N, Laurikkala J, Imanishi M, Usui H, Konishi M, Miyake A, et al. Sclerostin is a novel secreted osteoclast-derived bone morphogenetic protein antagonist with unique ligand specificity. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(26):24113-7.
99. Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C, Hayes T, Skonier JE, et al. Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *The EMBO journal*. 2003;22(23):6267-76.
100. Hens JR, Wilson KM, Dann P, Chen X, Horowitz MC, Wysolmerski JJ. TOPGAL mice show that the canonical Wnt signaling pathway is active during bone development and growth and is activated by mechanical loading in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2005;20(7):1103-13.
101. Uitterlinden AG, Arp PP, Paeper BW, Charmley P, Proll S, Rivadeneira F, et al. Polymorphisms in the sclerosteosis/van Buchem disease gene (SOST) region are associated with bone-mineral density in elderly whites. *American Journal of Human Genetics*. 2004;75(6):1032-45.
102. Robling AG, Bellido T, Turner CH. Mechanical stimulation in vivo reduces osteocyte expression of sclerostin. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*. 2006;6(4):354.
103. Lin C, Jiang X, Dai Z, Guo X, Weng T, Wang J, et al. Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/beta-catenin signaling. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2009;24(10):1651-61.
104. Li J, Sarosi I, Cattley RC, Pretorius J, Asuncion F, Grisanti M, et al. Dkk1-mediated inhibition of Wnt signaling in bone results in osteopenia. *Bone*. 2006;39(4):754-66.
105. Ishibashi H, Crittenden DB, Miyauchi A, Libanati C, Maddox J, Fan M, et al. Romosozumab increases bone mineral density in postmenopausal Japanese women with osteoporosis: A phase 2 study. *Bone*. 2017;103(Supplement C):209-15.
106. Langdahl BL, Libanati C, Crittenden DB, Bolognese MA, Brown JP, Daizadeh NS, et al. Romosozumab (sclerostin monoclonal antibody) versus teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis transitioning from oral bisphosphonate therapy: a randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet*. 2017;390(10102):1585-1594.
107. Liu S, Viridi AS, Sena K, Sumner DR. Sclerostin antibody prevents particle-induced implant loosening by stimulating bone formation and inhibiting bone resorption in a rat model. *Arthritis & Rheumatism*. 2012;64(12):4012-20.

108. McDonald MM, Reagan MR, Youlten SE, Mohanty ST, Seckinger A, Terry RL, et al. Inhibiting the osteocyte-specific protein sclerostin increases bone mass and fracture resistance in multiple myeloma. *Blood*. 2017;129(26):3452-64.
109. Moe SM, Chen NX, Newman CL, Organ JM, Kneissel M, Kramer I, et al. Anti-Sclerostin Antibody Treatment in a Rat Model of Progressive Renal Osteodystrophy. *Journal of bone and mineral research*. 2015;30(3):539-49.
110. Taut AD, Jin Q, Chung JH, Galindo-Moreno P, Yi ES, Sugai JV, et al. Sclerostin antibody stimulates bone regeneration after experimental periodontitis. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of The American Society For Bone and Mineral Research*. 2013;28(11):2347-56.
111. Chen H, Xu X, Liu M, Zhang W, Ke HZ, Qin A, et al. Sclerostin antibody treatment causes greater alveolar crest height and bone mass in an ovariectomized rat model of localized periodontitis. *Bone*. 2015;76:141-8.
112. Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, Hsu YM, Scott H, Hession C, et al. TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *The Journal of Biological Chemistry*. 1997;272(51):32401-10.
113. Wiley SR, Cassiano L, Lofton T, Davis-Smith T, Winkles JA, Lindner V, et al. A novel TNF receptor family member binds TWEAK and is implicated in angiogenesis. *Immunity*. 2001;15(5):837-46.
114. Vincent C, Findlay DM, Welldon KJ, Wijenayaka AR, Zheng TS, Haynes DR, et al. Pro-inflammatory cytokines TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) and TNFalpha induce the mitogen-activated protein kinase (MAPK)-dependent expression of sclerostin in human osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2009;24(8):1434-49.
115. Du YY, Zhao YX, Liu YP, Liu W, Wang MM, Yuan CM. Regulatory Tweak/Fn14 signaling pathway as a potent target for controlling bone loss. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2015;70:170-3.
116. Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, Nakae H, Matsuo T. Proinflammatory effects of tumour necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) on human gingival fibroblasts. *Clinical and Experimental Immunology*. 2006;146(3):540-9.
117. Mittal A, Bhatnagar S, Kumar A, Lach-Trifilieff E, Wauters S, Li H, et al. The TWEAK-Fn14 system is a critical regulator of denervation-induced skeletal muscle atrophy in mice. *The Journal of Cell Biology*. 2010;188(6):833-49.

118. Haile WB, Echeverry R, Wu J, Yepes M. The interaction between tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis and its receptor fibroblast growth factor-inducible 14 promotes the recruitment of neutrophils into the ischemic brain. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of The International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2010;30(6):1147-56.
119. Ucero AC, Berzal S, Ocana-Salceda C, Sancho M, Orzaez M, Messeguer A, et al. A polymeric nanomedicine diminishes inflammatory events in renal tubular cells. *PLoS one*. 2013;8(1):e51992.
120. Dohi T, Borodovsky A, Wu P, Shearstone JR, Kawashima R, Runkel L, et al. TWEAK/Fn14 pathway: a nonredundant role in intestinal damage in mice through a TWEAK/intestinal epithelial cell axis. *Gastroenterology*. 2009;136(3):912-23.
121. Xia Y, Herlitz LC, Gindea S, Wen J, Pawar RD, Misharin A, et al. Deficiency of fibroblast growth factor-inducible 14 (Fn14) preserves the filtration barrier and ameliorates lupus nephritis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2015;26(5):1053-70.
122. Park MC, Chung SJ, Park YB, Lee SK. Relationship of serum TWEAK level to cytokine level, disease activity, and response to anti-TNF treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology*. 2008;37(3):173-8.
123. Wang C, Chen LL, Pan HF, Leng RX, Qin WZ, Ye DQ. Expression of human tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Clinical Rheumatology*. 2012;31(2):335-9.
124. Liu ZC, Zhou QL, Li XZ, Yang JH, Ao X, Veeraragoo P, et al. Elevation of human tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis in peripheral blood mononuclear cells is correlated with disease activity and lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus. *Cytokine*. 2011;53(3):295-300.
125. Chicheportiche Y, Chicheportiche R, Sizing I, Thompson J, Benjamin CB, Ambrose C, et al. Proinflammatory activity of TWEAK on human dermal fibroblasts and synoviocytes: blocking and enhancing effects of anti-TWEAK monoclonal antibodies. *Arthritis Research & Therapy*. 2001;4(2):126.
126. Jin L, Nakao A, Nakayama M, Yamaguchi N, Kojima Y, Nakano N, et al. Induction of RANTES by TWEAK/Fn14 Interaction in Human Keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology*. 2004;122(5):1175-9.
127. Polek TC, Talpaz M, Darnay BG, Spivak-Kroizman T. TWEAK mediates signal transduction and differentiation of RAW264.7 cells in the absence of Fn14/TweakR. Evidence for a second TWEAK receptor. *The Journal Of Biological Chemistry*. 2003;278(34):32317-23.

128. Maecker H, Varfolomeev E, Kischkel F, Lawrence D, LeBlanc H, Lee W, et al. TWEAK attenuates the transition from innate to adaptive immunity. *Cell*. 2005;123(5):931-44.
129. Jakubowski A, Ambrose C, Parr M, Lincecum JM, Wang MZ, Zheng TS, et al. TWEAK induces liver progenitor cell proliferation. *The Journal of Clinical Investigation*. 2005;115(9):2330-40.
130. Abu-Amer Y. NF- κ B signaling and bone resorption. *Osteoporosis international*. 2013;24(9).
131. Dharmapatni AA, Smith MD, Crotti TN, Holding CA, Vincent C, Weedon HM, et al. TWEAK and Fn14 expression in the pathogenesis of joint inflammation and bone erosion in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*. 2011;13(2):R51.
132. Cantley MD, Fairlie DP, Bartold PM, Rainsford KD, Le GT, Lucke AJ, et al. Inhibitors of histone deacetylases in class I and class II suppress human osteoclasts in vitro. *Journal Of Cellular Physiology*. 2011;226(12):3233-41.
133. Perper SJ, Browning B, Burkly LC, Weng S, Gao C, Giza K, et al. TWEAK is a novel arthritogenic mediator. *The Journal of Immunology*. 2006;177(4):2610-20.
134. Yin X, Luistro L, Zhong H, Smith M, Nevins T, Schostack K, et al. RG7212 anti-TWEAK mAb inhibits tumor growth through inhibition of tumor cell proliferation and survival signaling and by enhancing the host antitumor immune response. *Clinical Cancer Research*. 2013;19(20):5686-98.
135. Meulendijks D, Lassen UN, Siu LL, Huitema AD, Karanikas V, Mau-Sorensen M, et al. Exposure and Tumor Fn14 Expression as Determinants of Pharmacodynamics of the Anti-TWEAK Monoclonal Antibody RG7212 in Patients with Fn14-Positive Solid Tumors. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(4):858-67.
136. Wisniacki N, Amaravadi L, Galluppi GR, Zheng TS, Zhang R, Kong J, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of anti-TWEAK monoclonal antibody in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical Therapeutics*. 2013;35(8):1137-49.
137. Schwartz N, Su L, Burkly LC, Mackay M, Aranow C, Kollaros M, et al. Urinary TWEAK and the activity of lupus nephritis. *J Autoimmun*. 2006;27.
138. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nature Reviews Genetics*. 2003;4(8):638-49.

139. Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H, et al. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2000;275(3):768-75.
140. Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL–RANK–OPG System in Immunity, Bone, and Beyond. *Frontiers in Immunology*. 2014;5:511.
141. Silva I, Branco JC. Rank/Rankl/opg: literature review. *Acta Reumatologica Portuguesa*. 2011;36(3):209-18.
142. Baud'huin M, Duplomb L, Teletchea S, Lamoureux F, Ruiz-Velasco C, Maillason M, et al. Osteoprotegerin: multiple partners for multiple functions. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2013;24(5):401-9.
143. Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature*. 1997;390(6656):175-9.
144. Knoop KA, Butler BR, Kumar N, Newberry RD, Williams IR. Distinct developmental requirements for isolated lymphoid follicle formation in the small and large intestine: RANKL is essential only in the small intestine. *The American Journal of Pathology*. 2011;179(4):1861-71.
145. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin Ligand Is a Cytokine that Regulates Osteoclast Differentiation and Activation. *Cell*. 93(2):165-76.
146. Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, Kurata K, Oh-hora M, Feng JQ, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med*. 2011;17(10):1231-4.
147. Kitaura H, Kimura K, Ishida M, Kohara H, Yoshimatsu M, Takano-Yamamoto T. Immunological Reaction in TNF- α -Mediated Osteoclast Formation and Bone Resorption In Vitro and In Vivo. *Clinical and Developmental Immunology*. 2013;2013:8.
148. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, et al. osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes & development*. 1998;12(9):1260-8.
149. Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS, Kostenuik PJ, Dougall WC, Sullivan JK, et al. Bench to bedside: elucidation of the OPG-RANK-RANKL pathway and the development of denosumab. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(5):401-19.

150. Wong BR, Josien R, Lee SY, Sauter B, Li H-L, Steinman RM, et al. TRANCE (Tumor Necrosis Factor [TNF]-related Activation-induced Cytokine), a New TNF Family Member Predominantly Expressed in T cells, Is a Dendritic Cell-specific Survival Factor. *The Journal of Experimental Medicine*. 1997;186(12):2075-80.
151. Walsh MC, Kim N, Kadono Y, Rho J, Lee SY, Lorenzo J, et al. Osteoimmunology: Interplay Between the Immune System and Bone Metabolism. *Annual Review of Immunology*. 2006;24(1):33-63.
152. Takayanagi H. New developments in osteoimmunology. *Nature Reviews Rheumatology*. 2012;8(11):684-9.
153. Kikuta J, Wada Y, Kowada T, Wang Z, Sun-Wada G-H, Nishiyama I, et al. Dynamic visualization of RANKL and Th17-mediated osteoclast function. *The Journal of Clinical Investigation*. 2013;123(2):866-73.
154. Loser K, Mehling A, Loeser S, Apelt J, Kuhn A, Grabbe S, et al. Epidermal RANKL controls regulatory T-cell numbers via activation of dendritic cells. *Nature Medicine*. 2006;12(12):1372-9.
155. Kiechl S, Wittmann J, Giaccari A, Knoflach M, Willeit P, Bozec A, et al. Blockade of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANKL) signaling improves hepatic insulin resistance and prevents development of diabetes mellitus. *Nat Med*. 2013;19(3):358-63.
156. Kajiya M, Giro G, Taubman MA, Han X, Mayer MP, Kawai T. Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease. *Journal of Oral Microbiology*. 2010;2.
157. Garlet TP, Coelho U, Repeke CE, Silva JS, Cunha Fde Q, Garlet GP. Differential expression of osteoblast and osteoclast chemmoattractants in compression and tension sides during orthodontic movement. *Cytokine*. 2008;42(3):330-5.
158. Wise GE, Yao S, Odgren PR, Pan F. CSF-1 Regulation of Osteoclastogenesis for Tooth Eruption. *Journal of Dental Research*. 2005;84(9):837-41.
159. Kobayashi-Sakamoto M, Hirose K, Isogai E, Chiba I. NF-kappaB-dependent induction of osteoprotegerin by *Porphyromonas gingivalis* in endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2004;315(1):107-12.
160. Han X, Lin X, Seliger AR, Eastcott J, Kawai T, Taubman MA. Expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand by B cells in response to oral bacteria. *Oral Microbiology and Immunology*. 2009;24(3):190-6.

161. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, Makihira S, Seki M, Karimbux NY, et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *The American Journal of Pathology*. 2006;169(3):987-98.
162. Reddi D, Bostanci N, Hashim A, Aduse-Opoku J, Curtis MA, Hughes FJ, et al. *Porphyromonas gingivalis* regulates the RANKL-OPG system in bone marrow stromal cells. *Microbes and Infection*. 2008;10(14-15):1459-68.
163. Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, et al. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2003;38(4):380-7.
164. Garlet GP, Martins W, Jr., Fonseca BA, Ferreira BR, Silva JS. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(8):671-9.
165. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, et al. Differential expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin mRNA in periodontal diseases. *Journal of Periodontal Research*. 2007;42(4):287-93.
166. Cesar-Neto JB, Duarte PM, de Oliveira MC, Tambeli CH, Sallum EA, Nociti FH, Jr. Smoking modulates interleukin-6:interleukin-10 and RANKL:osteoprotegerin ratios in the periodontal tissues. *Journal of Periodontal Research*. 2007;42(2):184-91.
167. Wara-aswapati N, Surarit R, Chayasadam A, Boch JA, Pitiphat W. RANKL upregulation associated with periodontitis and *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Periodontology*. 2007;78(6):1062-9.
168. Wara-aswapati N, Surarit R, Chayasadam A, Boch JA, Pitiphat W. RANKL Upregulation Associated With Periodontitis and *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Periodontology*. 2007;78(6):1062-9.
169. Mogi M, Otogoto J, Ota N, Togari A. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2004;83(2):166-9.
170. Lu HK, Chen YL, Chang HC, Li CL, Kuo MYP. Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2006;41(4):354-60.

171. Taubman MA, Kawai T. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine : An Official Publication of The American Association of Oral Biologists*. 2001;12(2):125-35.
172. Vernal R, Chaparro A, Graumann R, Puente J, Valenzuela MA, Gamonal J. Levels of cytokine receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in gingival crevicular fluid in untreated chronic periodontitis patients. *Journal of Periodontology*. 2004;75(12):1586-91.
173. Haffajee AD, Socransky SS, Goodson JM. Comparison of different data analyses for detecting changes in attachment level. *Journal of Clinical Periodontology*. 1983;10(3):298-310.
174. Silva N, Dutzan N, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Aguillon JC, et al. Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(3):206-14.
175. Buduneli N, Buduneli E, Kutukculer N. Interleukin-17, RANKL, and osteoprotegerin levels in gingival crevicular fluid from smoking and non-smoking patients with chronic periodontitis during initial periodontal treatment *Journal of Periodontology*. 2009;80(8):1274-80.
176. Bostanci N, Saygan B, Emingil G, Atilla G, Belibasakis GN. Effect of periodontal treatment on receptor activator of NF-κB ligand and osteoprotegerin levels and relative ratio in gingival crevicular fluid. *Journal of Clinical Periodontology*. 2011;38(5):428-33.
177. Savage A, Eaton KA, Moles DR, Needleman I. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2009;36(6):458-67.
178. Chapple ILC. Periodontal disease diagnosis: current status and future developments. *Journal of Dentistry*. 1997;25(1):3-15.
179. Fransson C, Wennstrom J, Berglundh T. Clinical characteristics at implants with a history of progressive bone loss. *Clinical Oral Implants Research*. 2008;19(2):142-7.
180. Gibbs CH, Hirschfeld JW, Lee JG, Low SB, Magnusson I, Thousand RR, et al. Description and clinical evaluation of a new computerized periodontal probe--the Florida probe. *Journal of Clinical Periodontology*. 1988;15(2):137-44.
181. Gleissner C, Kempfski O, Peylo S, Glatzel JH, Willershausen B. Local gingival blood flow at healthy and inflamed sites measured by laser Doppler flowmetry. *Journal of Periodontology*. 2006;77(10):1762-71.

182. Birek P, McCulloch CAG, Hardy V. Gingival attachment level measurements with an automated periodontal probe. *Journal of Clinical Periodontology*. 1987;14(8):472-7.
183. Meredith N, Alleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clinical Oral Implants Research*. 1996;7(3):261-7.
184. Aparicio C, Lang NP, Rangert B. Validity and clinical significance of biomechanical testing of implant/bone interface. *Clinical Oral Implants Research*. 2006;17 Suppl 2:2-7.
185. Kung RTV, Ochs B, Goodson JM. Temperature as a periodontal diagnostic. *Journal of Clinical Periodontology*. 1990;17(8):557-63.
186. Alfano MC. The origin of gingival fluid. *Journal of Theoretical Biology*. 1974;47(1):127-36.
187. Brill N. The gingival pocket fluid : Studies of its occurrence, composition, and effect. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1962;20(32)
188. Wassall RR, Preshaw PM. Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontology 2000*. 2016;70(1):65-79.
189. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontology 2000*. 2004;34(1):109-19.
190. Chapple ILC. Periodontal diagnosis and treatment – where does the future lie? *Periodontology 2000*. 2009;51(1):9-24.
191. Golub LM, Kleinberg I. Gingival crevicular fluid: a new diagnostic aid in managing the periodontal patient. *Oral Sciences Reviews*. 1976(8):49-61.
192. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontology 2000*. 2003;31:43-54.
193. Uitto VJ. Gingival crevice fluid--an introduction. *Periodontology 2000*. 2003;31:9-11.
194. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology 2000*. 2016;70(1):53-64.
195. Weinstein EM ID, Salkind A, Oshrain HI, Pappas GD. Studies of Gingival Fluid. *Periodontics*. 1967;5:161–6.
196. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*. 2003;31:32-42.

197. Baliban RC, Sakellari D, Li Z, DiMaggio PA, Garcia BA, Floudas CA. Novel protein identification methods for biomarker discovery via a proteomic analysis of periodontally healthy and diseased gingival crevicular fluid samples. *Journal of Clinical Periodontology*. 2012;39(3):203-12.
198. Kido J, Bando M, Hiroshima Y, Iwasaka H, Yamada K, Ohgami N, et al. Analysis of proteins in human gingival crevicular fluid by mass spectrometry. *Journal of Periodontal Research*. 2012;47(4):488-99.
199. Silva-Boghossian CM, Colombo AP, Tanaka M, Rayo C, Xiao Y, Siqueira WL. Quantitative proteomic analysis of gingival crevicular fluid in different periodontal conditions. *PloS one*. 2013;8(10):e75898.
200. Bostanci N, Heywood W, Mills K, Parkar M, Nibali L, Donos N. Application of label-free absolute quantitative proteomics in human gingival crevicular fluid by LC/MS E (gingival exudatome). *Journal of Proteome Research*. 2010;9(5):2191-9.
201. Klinge B, Gustafsson A, Berglundh T. A systematic review of the effect of anti-infective therapy in the treatment of peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002;29 Suppl 3:213-25; discussion 32-3.
202. Basegmez C, Yalcin S, Yalcin F, Ersanli S, Mijiritsky E. Evaluation of periimplant crevicular fluid prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-8 levels from health to periimplant disease status: a prospective study. *Implant Dentistry*. 2012;21(4):306-10.
203. Guncu GN, Tozum TF, Guncu MB, Yamalik N, Tumer C, Karabulut E, et al. Myeloperoxidase as a measure of polymorphonuclear leukocyte response in inflammatory status around immediately and delayed loaded dental implants: a randomized controlled clinical trial. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2008;10(1):30-9.
204. Yamalik N, Gunday S, Kilinc K, Karabulut E, Berker E, Tozum TF. Analysis of cathepsin-K levels in biologic fluids from healthy or diseased natural teeth and dental implants. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2011;26(5):991-7.
205. Arikan F, Buduneli N, Lappin DF. C-telopeptide pyridinoline crosslinks of type I collagen, soluble RANKL, and osteoprotegerin levels in crevicular fluid of dental implants with peri-implantitis: a case-control study. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2011;26(2):282-9.
206. Rakic M, Lekovic V, Nikolic-Jakoba N, Vojvodic D, Petkovic-Curcin A, Sanz M. Bone loss biomarkers associated with peri-implantitis. A cross-sectional study. *Clinical Oral Implants Research*. 2013;24(10):1110-6.

207. Nogueira-Filho G, Pesun I, Isaak-Ploegman C, Wijegunasinghe M, Wierzbicki T, McCulloch CA. Longitudinal comparison of cytokines in peri-implant fluid and gingival crevicular fluid in healthy mouths. *Journal of Periodontology*. 2014;85(11):1582-8.
208. Akman AC, Askin SB, Guncu GN, Nohutcu RM. Evaluation of Gingival Crevicular Fluid and Peri-Implant Sulcus Fluid Levels of Periostin: A Preliminary Report. *Journal of Periodontology*. 2017:1-11.
209. Recker EN, Avila-Ortiz G, Fischer CL, Pagan-Rivera K, Brogden KA, Dawson DV, et al. A Cross-sectional Assessment of Biomarker Levels around Implants Versus Natural Teeth in Periodontal Maintenance Patients. *Journal of Periodontology*. 2015;86(2):264-72.
210. Aleksandrowicz P, Żelechowska P, Agier J, Starska K, Kędzierski K, Wysokińska-Miszczuk J, et al. Evaluation of Metalloproteinase-8 Levels in Crevicular Fluid of Patients with Healthy Implants or Periodontitis. *Mediators of Inflammation*. 2017;2017:4920847.
211. Nomura T, Ishii A, Shimizu H, Taguchi N, Yoshie H, Kusakari H, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1, matrix metalloproteinases-1 and -8, and collagenase activity levels in peri-implant crevicular fluid after implantation. *Clinical Oral Implants Research*. 2000;11(5):430-40.
212. Padiál-Molina M, Suarez F, Rios HF, Galindo-Moreno P, Wang HL. Guidelines for the diagnosis and treatment of peri-implant diseases. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. 2014;34(6):e102-11.
213. Listgarten MA. Periodontal probing: What does it mean? *Journal of Clinical Periodontology*. 1980;7(3):165-76.
214. Loe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *Journal of Periodontology*. 1967;38(6):Suppl:610-6.
215. Nowicki D, Vogel RI, Melcer S, Deasy MJ. The gingival bleeding time index. *J Periodontol*. 1981;52(5):260-2.
216. Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljenberg B, Marinello C. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clinical Oral Implants Research*. 1992;3(1):9-16.
217. Khoshkam V, Chan HL, Lin GH, MacEachern MP, Monje A, Suarez F, et al. Reconstructive procedures for treating peri-implantitis: a systematic review. *Journal of Dental Research*. 2013;92(12 Suppl):131s-8s.
218. Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(8 Suppl):282-5.

219. Muntean L, Lungu A, Gheorghe SR, Valeanu M, Craciun AM, Felea I, et al. Elevated Serum Levels of Sclerostin are Associated with High Disease Activity and Functional Impairment in Patients with Axial Spondyloarthritis. *Clinical Laboratory*. 2016;62(4):589-97.
220. Machtei EE, Oved-Peleg E, Peled M. Comparison of clinical, radiographic and immunological parameters of teeth and different dental implant platforms. *Clinical Oral Implants Research*. 2006;17(6):658-65.
221. Pathak AK, Goel K, Shakya V, Tiwari AK. Periodontal parameters around implants and natural teeth. *National Journal of Maxillofacial Surgery*. 2016;7(1):52-5.
222. Hancock E, Cray R, O'leary T. The relationship between gingival crevicular fluid and gingival inflammation: A clinical and histologic study. *Journal of Periodontology*. 1979;50(1):13-9.
223. Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL. TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *Journal of Clinical Investigation*. 2000;106(12):1481-8.
224. Becerik S, Ozturk VO, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *Journal of Periodontology*. 2012;83(10):1304-13.
225. Lachmann S, Kimmerle-Müller E, Axmann D, Scheideler L, Weber H, Haas R. Associations between peri-implant crevicular fluid volume, concentrations of crevicular inflammatory mediators, and composite IL-1A-889 and IL-1B+3954 genotype: A cross-sectional study on implant recall patients with and without clinical signs of peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*. 2007;18(2):212-23.
226. Murata M, Tatsumi Ji, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, et al. Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1 β in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*. 2002;13(6):637-43.
227. Konttinen YT, Ma J, Lappalainen R, Laine P, Kitti U, Santavirta S, et al. Immunohistochemical evaluation of inflammatory mediators in failing implants. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. 2006;26(2).
228. Renvert S, Widen C, Persson GR. Cytokine expression in peri-implant crevicular fluid in relation to bacterial presence. *Journal of Clinical Periodontology*. 2015;42(7):697-702.

229. Mysliwiec H, Kiluk P, Mysliwiec P, Zelazowska-Rutkowska B, Baran A, Flisiak I. Influence of narrowband ultraviolet B phototherapy on serum tumour necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) in patients with psoriasis. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2017;42(7):786-90.
230. Fernandez-Laso V, Mendez-Barbero N, Valdivielso JM, Betriu A, Fernandez E, Egido J, et al. Soluble TWEAK and atheromatosis progression in patients with chronic kidney disease. *Atherosclerosis*. 2017;260:130-7.
231. Liu Y, Peng L, Li L, Liu C, Hu X, Xiao S, et al. TWEAK/Fn14 Activation Contributes to the Pathogenesis of Bullous Pemphigoid. *The Journal Of Investigative Dermatology*. 2017;137(7):1512-22.
232. Monov G, Strbac GD, Baron M, Kandler B, Watzek G, Gruber R. Soluble RANKL in crevicular fluid of dental implants: a pilot study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2006;8(3):135-41.
233. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. 1998;93(2):165-76.
234. Garlet GP, Martins W, Fonseca BA, Ferreira BR, Silva JS. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(8):671-9.
235. Emery JG, McDonnell P, Burke MB, Deen KC, Lyn S, Silverman C, et al. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(23):14363-7.
236. Li JH, Kirkiles-Smith NC, McNiff JM, Pober JS. TRAIL induces apoptosis and inflammatory gene expression in human endothelial cells. *The Journal of Immunology*. 2003;171(3):1526-33.
237. Arıkan F, Buduneli N, Kütükçüler N. Osteoprotegerin levels in peri-implant crevicular fluid. *Clinical Oral Implants Research*. 2008;19(3):283-8.
238. Ghighi M, Llorens A, Baroukh B, Chaussain C, Bouchard P, Gosset M. Differences between inflammatory and catabolic mediators of peri-implantitis and periodontitis lesions following initial mechanical therapy: An exploratory study. *Journal of Periodontal Research*. 2017.
239. Bostanci N, İlgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, et al. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(5):370-6.
240. Goodson J, Tanner A, Haffajee A, Sornberger G, Socransky S. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 1982;9(6):472-81.

241. Silva N, Dutzan N, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Aguillon JC, et al. Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(3):206-14.
242. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*. 2012;39(3):239-48.
243. Duarte PM, Serrão CR, Miranda TS, Zanatta LCS, Bastos MF, Favari M, et al. Could cytokine levels in the peri-implant crevicular fluid be used to distinguish between healthy implants and implants with peri-implantitis? A systematic review. *Journal of Periodontal Research*. 2016.
244. Duarte PM, de Mendonça AC, Máximo MBB, Santos VR, Bastos MF, Nociti Jr FH. Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. *Journal of Periodontology*. 2009;80(2):234-43.
245. Pei J, Fan L, Nan K, Li J, Shi Z, Dang X, et al. Excessive Activation of TLR4/NF- κ B Interactively Suppresses the Canonical Wnt/ β -catenin Pathway and Induces SANFH in SD Rats. *Scientific Reports*. 2017;7:11928.
246. Luo F, Zhou R, Lei H, Mou Y, Zhang P, Sun Y, et al. Umbelliferone attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury linked with regulation of TLRs–MyD88 and RIP140/NF- κ B signaling pathways. *RSC Advances*. 2016;6(100):97503-11.
247. Desjardins L, Liabeuf S, Oliveira RB, Louvet L, Kamel S, Lemke HD, et al. Uremic toxicity and sclerostin in chronic kidney disease patients. *Nephrologie & Therapeutique*. 2014;10(6):463-70.
248. Shi J, Ying H, Du J, Shen B. Serum Sclerostin Levels in Patients with Ankylosing Spondylitis and Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Research International*. 2017;2017:9295313.
249. Jager A, Gotz W, Lossdorfer S, Rath-Deschner B. Localization of SOST/sclerostin in cementocytes in vivo and in mineralizing periodontal ligament cells in vitro. *Journal of Periodontal Research*. 2010;45(2):246-54.
250. Suva LJ. Sclerostin and the unloading of bone. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2009;24(10):1649-50.
251. Jing D, Tong S, Zhai M, Li X, Cai J, Wu Y, et al. Effect of low-level mechanical vibration on osteogenesis and osseointegration of porous titanium implants in the repair of long bone defects. *Scientific Reports*. 2015;5:17134.
252. Henningsen A, Smeets R, Köppen K, Sehner S, Kornmann F, Gröbe A, et al. Immediate loading of subcrestally placed dental implants in anterior and premolar sites. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2017.

253. Isidor F. Loss of osseointegration caused by occlusal load of oral implants. A clinical and radiographic study in monkeys. *Clinical Oral Implants Research*. 1996;7(2):143-52.
254. Diao X, Li Z, An B, Xin H, Wu Y, Li K, et al. The Microdamage and Expression of Sclerostin in Peri-implant Bone under One-time Shock Force Generated by Impact. *Scientific Reports*. 2017;7(1):6508.
255. Kober C, Stubinger S, Hellmich C, Sader R, Zeilhofer HF. Finite element simulation of the human mandible: the role of (natural) teeth. *International Journal of Computerized Dentistry*. 2008;11(3-4):169-74.
256. Stewart K, Walsh S, Screen J, Jefferiss CM, Chainey J, Jordan GR, et al. Further Characterization of Cells Expressing STRO-1 in Cultures of Adult Human Bone Marrow Stromal Cells. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1999;14(8):1345-56.
257. Quarles LD, Yohay DA, Lever LW, Caton R, Wenstrup RJ. Distinct proliferative and differentiated stages of murine MC3T3-E1 cells in culture: An in vitro model of osteoblast development. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1992;7(6):683-92.
258. Hill TP, Später D, Taketo MM, Birchmeier W, Hartmann C. Canonical Wnt/ β -catenin signaling prevents osteoblasts from differentiating into chondrocytes. *Developmental Cell*. 2005;8(5):727-38.
259. Glass DA, Bialek P, Ahn JD, Starbuck M, Patel MS, Clevers H, et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Developmental Cell*. 2005;8(5):751-64.
260. Ma B, Hottiger MO. Crosstalk between Wnt/ β -catenin and NF- κ B signaling pathway during inflammation. *Frontiers in Immunology*. 2016;7.
261. Bertin D, Stephan D, Khrestchatsky M, Desplat-Jégo S. Is TWEAK a biomarker for autoimmune/chronic inflammatory diseases? *Frontiers In Immunology*. 2013;4.
262. Schwartz N, Rubinstein T, Burkly LC, Collins CE, Blanco I, Su L, et al. Urinary TWEAK as a biomarker of lupus nephritis: a multicenter cohort study. *Arthritis Research & Therapy*. 2009;11(5):R143.
263. Schwartz N, Michaelson JS, Putterman C. Lipocalin-2, TWEAK, and other cytokines as urinary biomarkers for lupus nephritis. *Annals of the New York Academy Sciences*. 2007;1109.
264. Perper SJ, Browning B, Burkly LC, Weng S, Gao C, Giza K, et al. TWEAK is a novel arthritogenic mediator. *Journal of Immunology*. 2006;177.

265. Ata-Ali J, Candel-Martí ME, Flichy-Fernández AJ, Penarrocha-Oltra D, Balaguer-Martínez JF, Penarrocha Diago M. Peri-implantitis: associated microbiota and treatment. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*. 2011;16(7):e937-43.
266. Salvi GE, Furst MM, Lang NP, Persson GR. One-year bacterial colonization patterns of *Staphylococcus aureus* and other bacteria at implants and adjacent teeth. *Clinical Oral Implants Research*. 2008;19(3):242-8.
267. Hultin M, Gustafsson A, Hallström H, Johansson LÅ, Ekfeldt A, Klinge B. Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*. 2002;13(4):349-58.
268. Albrektsson T, Dahlin C, Jemt T, Sennerby L, Turri A, Wennerberg A. Is marginal bone loss around oral implants the result of a provoked foreign body reaction? *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2014;16(2):155-65.

EK

EK.1. Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 824

Konu :

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 09 AĞUSTOS 2016 SALI
Toplantı No : 2016/16
Proje No : GO 16/524 (Değerlendirme Tarihi: 09.08.2016)
Karar No : GO 16/524- 20

Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Güliz N. GÜNCÜ' nün sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Rahime Meral NOHUTÇU, Doç. Dr. A. Cevdet AKMAN ve Doç. Dr. Aslı PINAR ile birlikte çalışacakları, Arş. Gör. Nil YAKAR' ın tezi olan, GO 16/524 kayıt numaralı ve "Diş Eti Oluğu Sıvısı İle Peri İmplant Oluk Sıvısındaki Sklerostin, TWEAK, RANKL ve OPG Oranlarının Karşılaştırılması" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|--|--|
| 1. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU (Başkan) | 10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Üye) | 11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA (Üye) | 12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM (Üye) | 13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye) | 14. Yrd. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye) |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye) | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye) | 16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN (Üye) | 17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGELEN (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye) | 18. Av. Meltem ONURLU (Üye) |