

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİSTİK FİBROZİSLİ HASTALARDA PERİODONTAL
DURUMUN KLİNİK, İMMÜNOLOJİK VE MİKROBİYOLOJİK
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Onurcem DURUEL

Periodontoloji Programı

DOKTORA TEZİ

ANKARA

2019

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİSTİK FİBROZİSLİ HASTALARDA PERİODONTAL
DURUMUN KLİNİK, İMMÜNOLOJİK VE MİKROBİYOLOJİK
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Onurcem DURUEL

Periodontoloji Programı

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ezel BERKER

ANKARA

2019

ONAY SAYFASI**KİSTİK FİBROZİSLİ HASTALARDA PERİODONTAL DURUMUN KLİNİK, İMMÜNOLojİK
VE MİKROBİYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Onurcem Duruel

Danışman: Prof. Dr. Ezel Berker

Bu tez çalışması 25.01.2019 tarihinde jürimiz tarafından "Periodontoloji Programı"nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Alev Akalın
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: Prof. Dr. Feriha Çağlayan
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: Prof. Dr. Nural Kiper
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: Prof. Dr. Tamer Ataoğlu
(Selçuk Üniversitesi)

Üye: Prof. Dr. Şule Bulut
(Başkent Üniversitesi)

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

07 Şubat 2019

Prof. Dr. Diclehan ORHAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun 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.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezimin aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- ✗ Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

28 /01/2019



Dt. Onurcem DURUEL

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez danışmanın önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN SAYFASI

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanının Prof. Dr. Ezel BERKER danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



Dt. Onurcem DURUEL

TEŞEKKÜR

Fakülteye lisans öğrencisi olarak geldiğim ilk günden itibaren bana bütün samimiyetiyle desteğini hissettiğim, doktora eğitimim boyunca, tezimin oluşturulması ve devamında fikirleriyle bana yol gösteren, tezimin her safhasında olduğu gibi laboratuvar aşamasında da tüm deneylerim sırasında birlikte çalıştığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Ezel Berker'e,

Doktora tezimin hasta grubunu en uygun şekilde bölümümüze yönlendirilmesi konusunda, tezime büyük destek ve katkı sağlayan Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi Göğüs Hastalıkları Bölümü öğretim üyeleri Prof. Dr. Nural Kiper, Prof. Dr. Uğur Özçelik, Prof. Dr. Deniz Doğru Ersöz, Prof. Dr. Ebru Yalçın'a ve hasta takibimi özenli bir şekilde yapan Dr. Sanem Eşref ve Dr. Mina Gharibzadeh Hızal'a,

Yine, tez çalışmalarına bilimsel ve teknik desteklerini esirgemeyen, Prof. Dr. İlhan Tezcan, Dr. Öğr. Üyesi Çağman Tan, ve Biyolog Begüm Özbek'e,

Desteklerini her zaman hissettiğim Prof. Dr. Meryem Tekçiçek ve Araş. Gör. Cansu Özşin'e, Araştırmamızın mikrobiyoloji basamağında bizden desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Burçin Şener, Prof. Dr. Özgen Eser ve Mikrobiyolog Öznur Gürpınar'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Doktora eğitimim boyunca desteğini hep hissettiğim Prof. Dr. Rahime M. Nohutcu ve Prof. Dr. Tolga Tözüm'e,

Klinik bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşıp, kendimi geliştirmeme büyük katkı sağlayan hocalarım Prof. Dr. Kenan Eratalay, Prof. Dr. Feriha Çağlayan, Prof. Dr. Dilek İlhan, Prof. Dr. Nermin Yamalık, Prof. Dr. Alev Akalın, Prof. Dr. Burak Demiralp, Prof. Dr. Güliz Güncü, Doç. Dr. Abdullah Akman, Dr. Öğr. Üyesi Gencay Keçeli, Dr. Öğr. Üyesi Yağmur Deniz Yıldırım'a,

Doktora eğitimim boyunca klinik tecrübe ve bilgileriyle desteklerini her zaman gösteren Doç. Dr. Erhan Dursun ve Dr. Öğr. Üyesi Burak Kutlu'ya,

Çalışma ortamıma sevgi ve dostluklarıyla anlam katan tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmamızın ortaya çıkabilmesi için kullandığım tüm malzemeler için maddi destek aldığım H.Ü.B.A.B.'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana her konuda destek olan ve hedeflerim doğrultusunda beni hep cesaretlendiren annem, babam ve en iyi arkadaşım olan kardeşime,

Desteğini hep hissettiğim, her anımda yanımda duran ve hayatıma anlam katan eşime,

Eve girdiğim andan itibaren bütün yorgunluğumu unutturan, bana enerji veren, bütün hayatımı değiştiren, canımdan çok sevdiğim kızıma,

Sonsuz teşekkürler...

ÖZET

Duruel, O. Kistik Fibrozisli Hastalarda Periodontal Durumun Klinik, İmmünolojik ve Mikrobiyolojik Olarak Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Programı Doktora Tezi, Ankara 2019. Bu çalışmanın amacı; kistik fibrozisli hastaların periodontal durumlarını belirlemek, dişeti oluğu sıvısında (DOS) sitokin ve biyokimyasal moleküllerin düzeylerini ölçmek ve hastaların bakteri plağında *P. aeruginosa* varlığını değerlendirmektir. KF'li 41 hasta ve 39 sağlıklı hastanın DOS ve plak örnekleri toplanarak, klinik ölçümleri yapıldı. Hastaların DOS hacmi kaydedildi. DOS'ta IL-1 β , IL-17, IL-10, ELA2, KFTR ve β -defensin-1 miktarları ELİSA ile ölçüldü. Toplanan plak örneklerinin EMB ve MHB besiyerlerinde ekimi ve PCR ile değerlendirilmeleri yapıldı. KF'li hastalarda DOS IL-1 β , ELA2, β -defensin-1 düzeyi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek ölçülürken; DOS IL-10 düzeyi ise kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu. Kontrol grubundaki hastaların plak örneklerinde *P. aeruginosa* tespit edilemezken; KF grubunda incelenen 18 hastanın 4'ünün plak örneklerinde *P. aeruginosa* saptandı. Periodontal durum, immünolojik ve biyokimyasal parametrelerin DOS'ta incelendiği ilk çalışma olan bu araştırmanın sonucunda; KF hastalığının, periodontal durumdan bağımsız olarak, lokal pro-enflamasyona ve düşük anti-enflamatuvar yanıtı neden olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, KF hastalığının, sık aralıklarla periodontal açıdan kontrol altına alınması gereken, riskli sistemik hastalıklar grubuna dahil edilerek değerlendirilmesinin önemli olacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kistik fibrozis, periodontal durum, dişeti oluğu sıvısı, sitokin, *Pseudomonas aeruginosa*.

Bu çalışma THD-2017-13454 Proje numarası ile H.Ü.B.A.B. tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Duruel, O. The Clinic, Immunologic and Microbiologic Evaluation of the Association between Cystic Fibrosis and Periodontal Status. Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, PhD Thesis in Periodontology, Ankara 2019. The aim of this study was to evaluate periodontal status of cystic fibrosis patients, to measure level of cytokines and biochemical molecules in gingival crevicular fluid (GCF), and to detect presence of *P. aeruginosa* in oral plaque samples. GCF and oral plaque samples were collected from 41 cystic fibrosis patients and 39 healthy subjects. GCF volume values were recorded. Level of IL-1 β , IL-17, IL-10, ELA2, CFTR, and β -defensin-1 were detected by ELISA method. Oral plaque samples were evaluated by using EMB broth, MHB broth, and PCR. Level of IL-1 β , ELA2, and β -defensin-1 in cystic fibrosis patients were significantly higher than control subjects. However, level of IL-10 in cystic fibrosis patients was significantly lower than healthy control subjects. Although *P. aeruginosa* were observed in four samples of 18 cystic fibrosis patients, none was detected in control subjects. As a result of this study, which is the first study aiming to detect levels of immunologic and biochemical parameters in GCF and to evaluate periodontal status, CF causes hyper pro-inflammation response and low anti-inflammation response, locally. Due to this pro-inflammatory balance, patients with CF should be followed-up more often than healthy individuals and CF should be classified as high-risk systemic disorders for periodontal diseases.

Key Words: Cystic fibrosis, periodontal status, gingival crevicular fluid, cytokine, *Pseudomonas aeruginosa*.

This study was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit, Hacettepe University (THD-2017-13454).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Kistik Fibrozis	5
2.1.1. KFTR Proteini	5
2.1.2. Kistik Fibrozis Patogenezi	6
2.2. Periodontal Hastalıklar	8
2.2.1. Gingivitis	10
2.2.2. Periodontitis	10
2.3. Periodontal Hastalıkların Mikrobiyolojisi	11
2.4. Periodontal Hastalıkta Enflamasyon ve Konak Yanıtı	11
2.5. Periodontal Hastalıkta Sitokinlerin Rolü	13
3. GEREÇLER VE YÖNTEM	16
3.1. Klinik Çalışmalar	16
3.1.1. Hasta Seçimi	16
3.1.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi	16
3.1.3. Bireylerin Periodontal Durumlarının Belirlenmesi	17
3.1.4. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Elde Edilmesi	20
3.1.5. Plak Örneklerinin Elde Edilmesi	20
3.2. DOS Örneklerinde Enflamatuvar Mediyatörlerin Enzyme Linked Sorbent Assay (ELISA) Yöntemi ile Belirlenmesi	21
3.2.1. KFTR'nin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi	21

3.2.2. IL-1 β 'nin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi	22
3.2.3. IL-10'un ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi	24
3.2.4. ELA2'nin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi	25
3.2.5. IL-17'nin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi	26
3.2.6. β -defensin-1'in ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi	27
3.3. Bakteri Plağında Mikrobiyolojik Yöntemlerle <i>P. aeruginosa</i> Varlığının Araştırılması	29
3.3.1. Bakteri Plağının Kültürü	29
3.3.2. Bakteri Plağında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile <i>P. aeruginosa</i> Varlığının Araştırılması	29
4. BULGULAR	34
4.1. Klinik ve İmmünolojik Bulgular	34
4.2. Mikrobiyolojik Analiz Bulguları	55
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇLAR	65
7. KAYNAKLAR	66
8. EKLER	76
EK 1. ETİK KURUL	76
EK 2. DİJİTAL MAKBUZ	77
EK 3. ORJİNALLİK RAPORU	78
9. ÖZGEÇMİŞ	79

SİMGELER VE KISALTMALAR

C5a	Kompleman 5a
CD	Cep derinliği
DOS	Dişeti oluğu sıvısı
ELA2	Nötrofil elastaz
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMB	Eosine methylene blue
Gİ	Gingival indeks
ICAM	İntraselüler adezyon molekülü
IFN-γ	İnterferon- γ
Ig	İmmünglobulin
IL	Interlokin
KAS	Klinik ataçman seviyesi
KF	Kistik fibrozis
KFTR	Kistik fibrozis transmembran reguletör
LPS	Lipopolisakkarit
MALDI-TOF	Matrix-assisted laser desorption/ionization
MCP-1	Monosit kemoatraktan protein-1
MHB	Mueller Hinton buyyon
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PGE₂	Prostoglandin-E ₂
Pİ	Plak indeksi
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
SK	Sondlamada kanama

TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü- β
Th	T helper
TMB	Tetrametil benzidin
TNF-α	Tümör nekrotize edici faktör- α

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. KF'li hastalarda anormal KFTR sonucunda gözlenen farklılaşmış iyon ve su transferi	7
2.2. KF'li hastalarda solunum yolu enfeksiyonunun immünopatogenezi	8
3.1. Çalışma gruplarının şematik dağılımı	17
4.1. KF ve kontrol gruplarının ortalama DOS hacim değerleri	38
4.2. KF ve kontrol gruplarının periodontal durumlarına göre ortalama DOS hacmi değerleri	38
4.3. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama KFTR düzeyleri	40
4.4. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre KFTR düzeyleri	40
4.5. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama ELA2 düzeyleri	41
4.6. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama ELA2 düzeyleri	42
4.7. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama IL-10 düzeyleri	43
4.8. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama IL-10 düzeyleri	43
4.9. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama IL-1 β düzeyleri	44
4.10. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama IL-1 β düzeyleri	45
4.11. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama IL-17 düzeyleri	46
4.12. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama IL-17 düzeyleri	46
4.13. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama β -defensin-1 düzeyleri	47
4.14. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama β -defensin-1 düzeyleri	48
4.15. Klinik örneklerin farklı iki izolasyon yöntemi ile çalışılan polimeraz zincir reaksiyonu	56

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Periodontal dokularda sıklıkla incelenen pro- ve anti-enflamatuvar sitokinler	15
3.1. <i>OprL</i> geni için hazırlanan PCR karışımının içeriği	32
4.1. Çalışma gruplarının yaş, cinsiyet ve periodontal duruma göre dağılımı	35
4.2. Hastaların klinik ölçüm ve değerleri.	36
4.3. Hastaların DOS hacmi ve sitokin düzeyleri ortalama değerleri	53
4.4. Hastaların alt gruplara göre DOS hacmi ve sitokin düzeyleri ortalamaları	54

1. GİRİŞ

Kistik fibrozis (KF); beyaz ırkta 2500 – 3000 kişide bir görülen, otozomal resesif geçiş gösteren, yaşamı sınırlayan, genetik bir hastalıktır (1, 2). Daha önceden bir çocuk hastalığı olarak bilinirken, 1946 yılında ilk erişkin vakanın bildirilmesinden sonra, erişkin hasta vakalarının giderek arttığı gözlenmiştir (3). KF genindeki mutasyon sunucunda, KF geninin ürünü olan anormal “kistik fibrozis transmembran regülatör protein”leri (KFTR) oluşur. Anormal KFTR proteini, klor kanalının etkilenmesine yol açmakta; sekonder olarak başka iyon kanallarının da aktivitesini (sodyum, bikarbonat gibi) bozarak, suyun bu iyonlara bağlı pasif geçişini azaltmaktadır (4, 5).

KF’li hastalarda akciğer enfeksiyonundan sorumlu, en sık karşılaşılan ve akciğerdeki enflamasyonu tetikleyen mikroorganizma *Pseudomonas aeruginosa*’dır. Yapılan çalışmalarda, anormal KFTR’nin bu bakterinin kolay tutunmasına neden olduğu gösterilmiştir. En önemli fungal ajanlar ise *Candida albicans* ve *Aspergillus fumigatus*’tur. Küçük yaşlarda enfeksiyon etkeni olarak virüsler, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* önemliyken; yaş büyüdükçe *Pseudomonas aeruginosa* ön plana çıkmaktadır (6-10).

KF’li hastalarda yapılan birçok çalışmada akciğer sıvılarında interlökin-8 (IL-8), IL-6, tümör nekrozitan faktör-alfa (TNF- α), IL-1, intraselüler adezyon molekülü (ICAM) ekspresyonunun arttığı gözlenirken; IL-10 düzeyinin azaldığı bildirilmiştir. Bir çalışmada KF’li epitelyal hücrelerin IL-8 ve Monosit Kemoatraktan Protein-1’i (MCP-1) eksprese ettiği gösterilmiştir. Solunum epitelini korumakla görevli insan β -defensin-1 fonksiyonunun, KF’li hastalarda solunum yollarındaki tuz miktarının değişiminden dolayı bozulmasıyla mikroorganizmaların solunum epiteline tutunması kolaylaşır. Polimorfonükleer lökosit (PMNL) göçü artar ve ortamdaki PMNL’lerden proteazlar (en önemlisi elastaz) salgılanır (11-14). KF’li hastaların sistemik durumları stabil bile olsa, başlıca kemoatraktan molekül olan IL-8’in bu hastaların serum ve bronkoalveolar lavaj sıvısındaki miktarlarının sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (15, 16). Ayrıca, KF’li bireylerde T helper (Th) hücreleri incelendiğinde, Th17 yüzdesi bronkoalveolar lavaj sıvısı ve periferik kanda kontrol

grubuna göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (17-19). Th17 hücrelerinin ve epitelyal hücrelerin aktivasyonu sonucunda, IL-17 ekspresyonunun arttığı; IL-17 etkisiyle de IL-1 β , IL-6 ve IL-8 gibi enflamatuvar sitokin ve kemokinlerin ekspresyonunun gözlemlendiği birçok çalışmada kanıtlanmıştır (20-22). Ayrıca KF'li hastaların tükürüğünde sodyum, fosfat, klorit, lipit ve prostoglandin-E2 (PGE₂) konsantrasyonunda artış gözlenmiştir (23).

Periodontitis, gram negatif anaerob bakteriler ile konağın immün sistemi arasındaki etkileşim sonucu başlayan ve ilerleyen, çevresel ve sistemik faktörler ile hızlanabilen, multifaktöriyel, kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Bu bakteriler içerisinde en önemlileri; *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* olarak belirtilmiştir (24, 25).

Dental biyofilmdeki patojen mikroorganizmalar ve bu mikroorganizmalara karşı oluşan konak kaynaklı immün yanıt, hastalığın ilerlemesi ve şiddetinde önemli rol oynamaktadır. Konak-bakteri etkileşimi sonucundaki immün mekanizmalar, iltihabi mediyatörlerin çok miktarda salınımına yol açarak doku yıkımını başlatır (26). Sitokinler gibi çeşitli mediyatörlerin, dişeti oluşu sıvısındaki (DOS) konsantrasyonları periodontal hastalık durumunda değişmektedir (27). Örneğin; IL-1 β bir yandan enflamasyon ve immünitede anahtar bir rol oynarken, öte yandan enflamatuvar değişikliklere ve doku hasarına katkıda bulunan diğer mediyatörlerin sentez ve sekresyonunu indükleyerek pro-enflamatuvar yanıtı artıran bir özelliğe sahiptir. Gingivitis oluşumu ve şiddetli periodontitis ile DOS'ta artmış IL-1 β seviyesi ilişkili bulunmuştur (28). Deneysel çalışmalarda, IL-1 β inhibe edildiğinde, ataçman ve kemik kaybı, enflamatuvar hücre miktarı anlamlı olarak azalmaktadır (29, 30). TNF- α antijenlere, özellikle bakteriyel lipopolisakkaritlere (LPS) karşı makrofajlar tarafından sentezlenir ve fibroblastların apoptozisini indükleyerek doku tamirini önleme kapasitesine sahip bir sitokindir. Dişeti iltihabında, TNF- α 'nın DOS'taki konsantrasyonu artar. IL-4, makrofaj fonksiyonunu engelleyen, Th2 lenfositler tarafından salgılanan anti-enflamatuvar bir sitokindir. Periodontal dokularda IL-4'ün bulunmaması makrofaj akümüülasyonunun artışının yanında; IL-1 β , TNF- α ve PGE₂

sentezinin artmasına da neden olur (31). IL-10'un immünsüpresif ve anti-enflamatuvar etkileri birçok çalışmada *in vivo* olarak gösterilmiştir. Hayvan çalışmalarında *P. gingivalis* ile oluşturulan deneysel periodontal hastalıkta, IL-10 etkisiyle Th1 yolunun baskılanarak alveol kemik yıkımının engellendiği tespit edilmiştir (32). Bunun yanında artrit ile ilgili yapılan hayvan çalışmalarında, IL-10'un etkisiyle hastalığın ilerleme hızının yavaşlatılabileceği gösterilmiştir (33, 34). Bu etkilerin sonucunda, IL-10'un akut iltihabi yanıtı sınırlayan bir anti-enflamatuvar sitokin olduğu bilinmektedir.

KF ve periodontal hastalık ilişkisi araştırıldığında; Ajonuma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, immünohistokimyasal olarak periodontitisli hastalarda, dişeti epitelinin tüm tabakalarında ve bağ dokusunda KFTR molekülü belirlenmiştir. Gingival sağlıklı grupta ise sadece granüler ve spinoz tabakada KFTR'ye rastlanılmıştır (35). Başka bir çalışmada ise periodontopatojen olan *P. gingivalis*'in, kistik fibrozisli hastalarda tekrarlayan akciğer enfeksiyonunun en sık etkeni olan *P. aureginosa* ile ko-enfeksiyon özelliği gösterdiğinden bahsedilmiştir (36). Periodontal hastalık ile solunum sistemi hastalıkları arasındaki karşılıklı etkileşimi inceleyen başka bir çalışmada; oral patojenlerin aspirasyonu, periodontal dokularda sentezlenen sitokinlerin, solunum sistemi enfeksiyonunu kolaylaştırması, periodontal hastalık ilişkili tükürük enzimlerin bronşiyal mukoza yüzeyinin direncini etkileyerek, patojen bakterilerin adezyon ve kolonizasyonunu kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür (37). Sunulan bu bilgilerin ışığı altında, KF'li hastalarda klinik periodontal durumun incelendiği, mikrobiyolojik, immünolojik ve biyokimyasal parametrelerin lokal olarak araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu nedenle çalışmamızda;

1) KF'li hastaların periodontal durumlarının belirlenmesi,

2) KF'li hastaların DOS hacminin ve DOS'ta bulunan enflamasyonla ilgili antimikrobiyal peptit (β -defensin-1), enzim (elastaz) ve sitokinlerin (IL-1 β , IL-17, IL-10, KFTR) düzeylerinin değerlendirilmesi,

3) KF'li hastaların bakteriyel plağında *P. aeruginosa* varlığının bakteriyal kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kistik Fibrozis

Kistik fibrozis (KF); özellikle beyaz ırkta, 2500-3000 kişide bir görülen, otozomal resesif geçiş gösteren, yaşamı sınırlayan, genetik bir hastalıktır (2). Daha önceleri çocuk hastalığı olarak nitelendirilmesine karşın, 1946 yılında ilk yetişkin kistik fibrozis vakasının sunulmasıyla, erişkinlerde de olabileceği gösterilmiştir (3). Günümüzde, erken yaşta teşhis ile birlikte, uygulanan tedavi ve bakımlar ile hastaların ortalama yaşam süreleri uzamıştır (3, 38).

İlk kistik fibrozis tanısını 1938 yılında Dorothy Andersen koymuştur. Andersen, gelişemeyen, soluk renkte ve kötü kokulu diyare atıkları olan çocukların birçoğunun ikinci yaşında akciğer enfeksiyonu sebebiyle yaşamını yitirdiğini gözlemlemiştir. Yapılan otopsilerde, solunum yollarının yapışkan, yeşil-gri renkte bir iltihapla tıkalı olduğu tespit edilmiştir (39). 1953 yılındaki başka bir çalışmada ise, hasta çocukların terinde tuz kaybı tespit edilmiş ve hastalığın tuz transportunda meydana gelen bozukluktan kaynaklandığı ileri sürülmüştür (40). 1980'li yıllarda yapılan çalışmalarla, klorür iyonu transportunda meydana gelen bozukluklar gösterilmiştir (41).

2.1.1. KFTR Proteini

Genetik ile ilgili çalışmaların hız kazanmasıyla 1989 yılında kistik fibrozise neden olan gen belirlenmiştir (42). KFTR adı verilen proteini kodlayan 7. kromozomun uzun kolunda günümüzde yaklaşık 2000 adet mutasyonu tanımlanmıştır (43). KFTR'lerin β -adrenerjik reseptörler (44), fosfodiesterazlar (45) ve diğer iyon kanalları (46, 47) ile ilişkileri bulunduğu saptanmıştır. Solunum yolu epiteli, pankreas kanal epiteli, vas deferens, safra kanal epiteli, ince ve kalın bağırsak epitellerindeki KFTR'nin mutant olması hastalığın kliniğini belirlemektedir (48).

Anormal KFTR proteini nedeniyle hücre dışına klor çıkışı olamaz, hücre içine sodyum girişi artar. Bunun sonucunda oluşan sekresyon su ve elektrolitten fakir

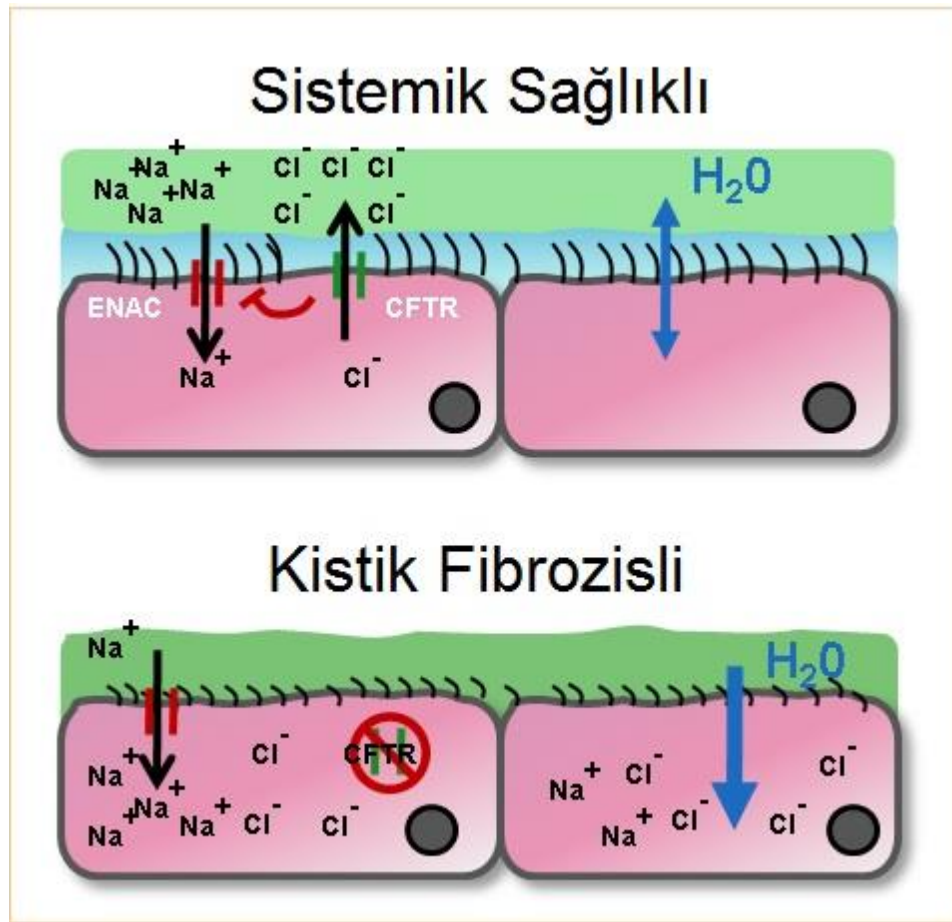
hale gelmektedir. Kistik fibrozisin, birçok sistemi tutan, ekzokrin bir bozukluk olmasından dolayı; çeşitli klinik bulgular gözlenebilmektedir (49). Kardeş ölümü öyküsü, anne-baba akrabalığı, kronik öksürük ve balgam varlığı, tipik KF patojenlerinin (*S. aureus*, *Haemophilus influenzae*, *P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia kompleks*) akciğerde kolonizasyonu ve enfeksiyonu, nazal polip, hava yolu tıkanıklıkları (hırıltı), konjenital bilateral vas deferens yokluğu, rektal prolapsus, distal bağırsak tıkanması, pankreas yetmezliği, fokal biliyer siroz veya multilobüler siroz, parmaklarda çomaklaşma, büyüme geriliği, hipoproteinemi ve ödem, akut tuz kaybı, kronik metabolik alkaloz gibi klinik bulgular kistik fibrozis ile birlikte görülebilmektedir (50-52).

2.1.2. Kistik Fibrozis Patogenezi

Kistik fibrozis hastalığından en çok etkilenen organ akciğerlerdir. Çeşitli sıklıkta ve şiddette gözlenen akciğer enfeksiyonu ve kronik enflamasyon hastaların yaşam süre ve kalitelerini etkilemektedir (53). KF'li bireylerde gelişen solunum yolu enfeksiyonlarından sıklıkla *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *H. influenzae* sorumlu tutulmakla birlikte, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Achromobacter xylosoxidans* gibi fırsatçı patojenler de etkili olabilmektedir (52). Çeşitli fungal patojenlerin etken olduğu akciğer enfeksiyonları da sıklıkla görülmektedir. *Aspergillus fumigatus* en sık rastlanan fungal etkidir ve alerjik bronkopulmoner aspergillosis neden olmaktadır. Bununla birlikte *Candida* türleri, özellikle *Candida albicans* kistik fibrozis balgam örneklerinde en sık izole edilen mantar çeşididir (54, 55).

Kistik fibrozisli hastaların solunum yollarındaki bu mikroorganizma yoğunluğunun KFTR fonksiyon bozukluklarına veya KFTR proteininin hiç bulunmamasına bağlı olduğu bilinmektedir. Anormal KFTR proteinine bağlı olarak, hücre dışına klor iyonu transferi gerçekleşemez. Buna bağlı olarak, hızlı sodyum emilimi ile suyun submukozaya geçişi gerçekleşir. Böylece solunum yolu daha dehidrate olarak salgıların fukoz (heksozdeoksi şeker) ve sülfat yoğunlukları artar. Goblet hücrelerinden anormal yapıda müsin salgılanmasından dolayı da hastaların balgamları giderek koyu kıvamlı bir hal alır (Şekil 2.1). Bunların sonucu olarak, hem siliyer aktivite hem de öksürük yolu ile mukus temizlenmesi azalarak, solunum

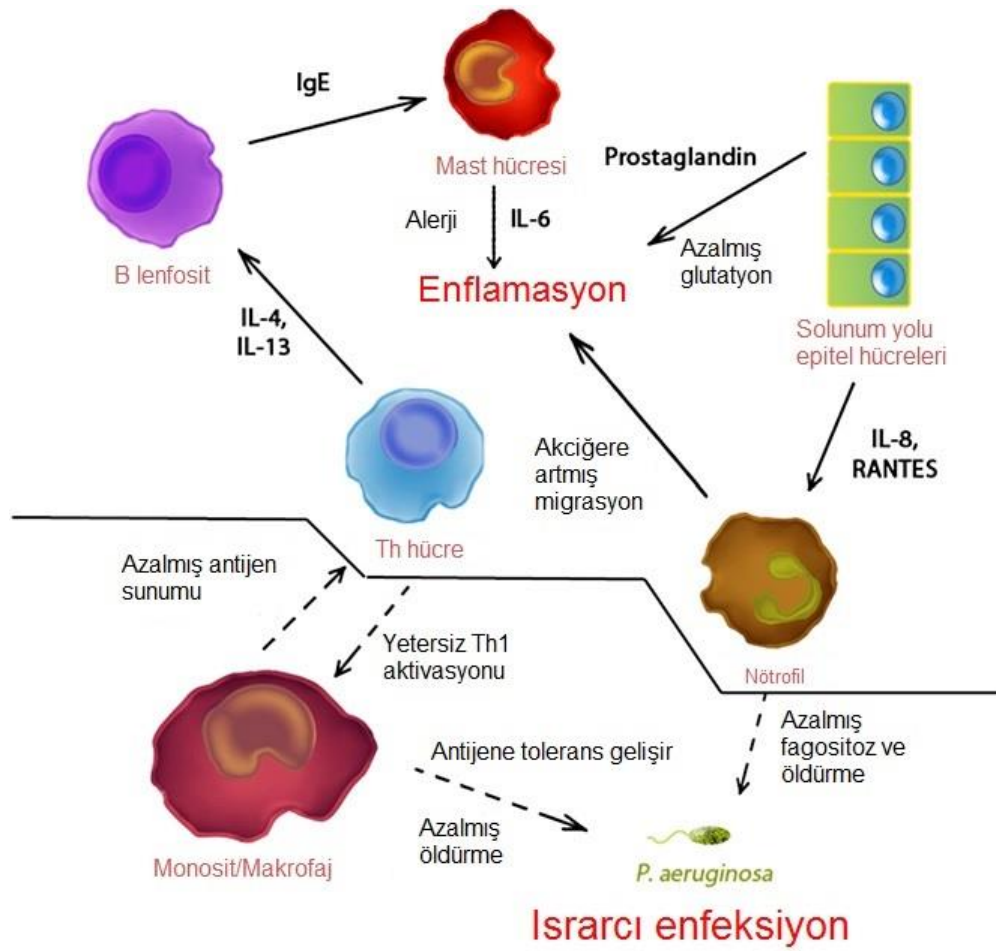
yollarında gelişen patolojik olaylar meydana gelmektedir. Oluşan mukus plakları, enerji bağımlı sodyum iyon kanallarının aktivitesini artırır. Gerekli enerjinin sağlanabilmesi için de mitokondriyal aktivite ve oksijen kullanımında artış gözlenmektedir. Bu artış sonucunda alt solunum yolları mikroaerofilik özellik kazanır. Böylece patojen mikroorganizmaların, alt solunum yollarında kolonizasyonu artar. Patojen mikroorganizmalar; lizozim, laktoferrin, nötrofil ve makrofaj sistemi gibi savunma mekanizmaları ve antibiyotiklerin etkilerinden kaçarak enfeksiyona neden olurlar (56, 57).



Şekil 2.1. KF'li hastalarda anormal KFTR sonucunda gözlenen farklılaşmış iyon ve su transferi

Alt solunum yollarında enfeksiyona sebep olan mikroorganizmaların kolaylıkla temizlenememesinden dolayı, immün yanıt uyarılarak, kronik enflamasyon oluşur. Polimorfonükleer lökositlerin etkin rol oynaması sonucunda, IL-8, IL-1, TNF- α ve IL-6 gibi pro-enflamatuvar sitokinler ortamda artarken; anti-

enflamatuvar bir sitokin olan IL-10 miktarı azalır. Kemokin düzeylerindeki artış nedeniyle, nötrofil kemotaksisinin arttığı gözlenir. Nötrofillerden başta elastaz olmak üzere çeşitli enzimler salgılanmaktadır. Salgılanan elastazın; salgıyı artırarak tıkanmayı artırmak, fagositozu olumsuz etkilemek ve solunum yolları yapısında bulunan elastini parçalayarak bronşektazi gelişimine neden olmak gibi birçok patolojik etkisi vardır (Şekil 2.2) (51, 58-60). Bütün bunların yanında, antimikrobiyal bir peptid olan defensinin, artan tuz konsantrasyonu sebebiyle, etkinliğinin azaldığı düşünülmektedir (61).



Şekil 2.2. KF’li hastalarda solunum yolu enfeksiyonunun immünopatogenezi

2.2. Periodontal Hastalıklar

Dişi çevreleyen sement, alveol kemiği, periodontal ligament ve dişetini etkileyen hastalıklara “periodontal hastalıklar” adı verilmektedir. Periodontal

hastalıkların sınıflandırılması için, 2017 yılında, Amerikan Periodontoloji Akademisi ve Avrupa Periodontoloji Birliği tarafından düzenlenen uluslararası çalıştayda sınıflandırma şu şekilde yapılandırılmıştır (62):

A. Periodontal Hastalık ve Durumlar

1. Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar ve Durumlar

- Periodontal sağlık ve gingival sağlık
- Gingivitis (Biyofilm tarafından indüklenen)
- Gingival hastalıklar (Biyofilm tarafından indüklenmeyen)

2. Periodontitis

- Nekrotizan periodontal hastalıklar
- Periodontitis
- Sistemik bir hastalığın bulgusu olarak periodontitis

3. Periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar

- Periodontal destek dokuları etkileyen sistemik hastalıklar ve durumlar
- Periodontal abseler ve endodontik-periodontal lezyonlar
- Mukogingival deformite ve durumlar
- Travmatik okluzal kuvvetler
- Diş ve protez ilişkili faktörler

B. Peri-implant Hastalık ve Durumlar

1. Peri-implant sağlık

2. Peri-implant mukozitis

3. Peri-implantitis
4. Peri-implant yumuşak ve sert doku yetersizlikleri

2.2.1. Gingivitis

Gingivitis, dişte birleşim epitelinin seviyesinin değişmediği, bakteriyal plak akümüasyonu sonucu klinik iltihabi bulguların gözleendiği bir dişeti hastalığıdır. Dişetlerinde eritem, pürüklülük kaybı, ödem ve dişeti marjinde bıçak sırtı sonlanmanın kaybolduğu bir klinik görüntü ile karakterizedir. Sondlamada kanama ve DOS hacminde artış gözlenir (63-65).

Löe ve ark. (66) yaptıkları deneysel çalışmada, mikrobiyal dental plak ile gingivitisin başlaması ve ilerlemesi arasında direkt ilişki bildirmişlerdir. Aşamalar arasında klinik olarak tam ayırım yapılamasa da, iltihabi durumun ilerleyişi aşamalar şeklinde rapor edilmiştir. Dental plağın etkisiyle, dişetinde kan akış hızı artar ve dişetinde kapillerler genişler. DOS artar. Mikrobiyal uyarılar ile lökositler ve endotelial hücreler uyarılır. Erken lezyonda damar geçirgenliğinde artış gözlenir. Eritem ve retepeg oluşumunda yoğunluk izlenir. Birleşim epiteline yakın tarafta lenfosit birikimi ve kollajen yıkımı mevcuttur. Yerleşmiş lezyonda daha çok plazma hücreleri aktiftir. Kan damarlarında akış bozulur. Bunun sonucunda ilerlemiş gingivite, dişetleri mor veya koyu mavimsi bir renge sahip olur (67, 68).

2.2.2. Periodontitis

Periodontitis, periodonsiyumun yıkımı ile karakterize, multifaktöriyel, kronik bir hastalıktır. Periodontitisli hastalarda periodontal cep oluşumu, klinik ataçman ve radyografik kemik kaybı gözlenmektedir. Şiddetli kemik kaybı varlığında dişlerde mobilite artışı izlenir. Lokalize, generalize veya sadece molar-keser bölgelerinde gözlenebilir. Sistemik ve çevresel faktörlerin etkisiyle, hastalığın şiddeti ve ilerleme hızı artabilmektedir (69, 70). Periodontal dokularda kronik iltihabi hücreler artar, özgül immün yanıtı geçiş gözlenir. Birleşim epitelinin apikalinde iltihabi hücre infiltrasyonu artar ve bu infiltrasyonda plazma hücreleri dominant hale geçer (71).

2.3. Periodontal Hastalıkların Mikrobiyolojisi

20. yüzyılın ortasından itibaren, periodontal hastalıkların etiyolojisi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. O dönemde, mikrobiyal plağın bütünü hastalığa sebep olduğu düşünülmektedir. Ancak 1960 ve 1970'lerde, dental plakta yer alan farklı mikroorganizmaların spesifik olarak periodontal hastalık etkeni olduğu tanımlanmaya başlanmıştır (72).

“Spesifik plak hipotezi”ne göre, dental plağın patojenitesi miktarı ile değil, içeriğindeki belirli bakteri türlerine ve bu bakterilerin miktarının artışına bağlıdır. Gingivite, gram pozitif fakültatif ve gram negatif anaerobik bakteriler hemen hemen eşit oranda görülmektedir (72). Gram pozitif bakteriler arasında *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis* ve *Peptostreptococcus micros*; gram negatif bakteriler arasında ise *Veillonella parvula*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter* ve *Haemophilus* türleri bulunmaktadır (72-74).

Başlıca periodontopatojenlerin *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus* ve *Eikenella corrodens*'in olduğu gösterilmiştir (73, 75).

2.4. Periodontal Hastalıkta Enflamasyon ve Konak Yanıtı

Periodontal hastalıkların başlamasında birincil etiyojik ajan bakteri plağıdır. Periodontal hastalık varlığında, mikrobiyal kompozisyonda gram negatif bakteriler daha baskın olarak yer alır. Plağın birikimi ve plak bakterilerinin etkisi sonucunda enflamatuvar yanıt başlar (76, 77).

Enflamasyon, uyaranlara karşı oluşan hücresel ve vasküler olayların bütünüdür. Enflamasyonun, yara iyileşmesinde ve konağı enfekte eden mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesi veya uzaklaştırılmasında etkisi vardır

(77, 78). Enflamasyonun oluşmasında, uyarana bağlı özel reseptörler ve sinyal iletim mekanizmaları aktif rol alır (77, 79, 80).

İltihabi yanıt, hem histolojik hem de klinik olarak, periodontal hastalığın tüm aşamalarında izlenebilir. Akut enflamasyonda ilk olarak damar geçirgenliği artar. Plakta yer alan bakteriler, birleşim epiteli boyunca birçok metabolit salarak birleşim epiteli ve bağ dokusunda hasara neden olurlar. Dokulardaki mikrovasküler yapının bozulması sonucu, vazoaktif mediyatörler (bradikinin, histamin gibi) salınır (81, 82). İltihabi yanıtın başlaması sonucunda sentezlenen kemotaktik mediyatörlerin (IL-8 vb.) etkisi ile lökositlerin dokuya doğru göçü gerçekleşir. Enfeksiyon bölgesine ulaşan lökositler “iltihabi infiltratı” oluşturur. Adezyon molekülleri (E-selektin, ICAM-1 gibi) nötrofillerin dokuya geçişini yönlendirir. Bakteriyal ürünler ve adezyon moleküllerinin etkisiyle, nötrofillerin damar endoteline adezyonu, yuvarlanmaları ve damar dışına çıkışları regüle edilir (83, 84).

Nötrofiller, kemotaktik faktörlerin etkisiyle dokuda hareket eder. Önemli bir kemoatraktan molekül olan kompleman 5a (C5a) nötrofillerin hareketlerinin yönlendirilmesinde rol oynar. İlk savunma hattını oluşturan hücreler olan nötrofillerin, lizozomal enzimler ve arşidonik asit metabolitleri gibi konakta doku yıkımına neden olabilecek pro-enflamatuvar mediyatörleri sentezledikleri bilinmektedir. Nötrofil-bakteri etkileşiminin, fibroblastlar, endotel hücreleri ve keratinositler gibi birçok konak hücrelerini hasara uğratabileceği gösterilmiştir (85, 86).

Akut iltihabi yanıtın devamında, doku infiltratı içinde T ve B lenfosit miktarı artmaya başlar. Yoğun sitokin ve antijen varlığında, T lenfositler çoğalarak CD4 (+) ve CD8 (+) T hücrelerini oluştururken; B hücreleri de plazma hücrelerine dönüşür (87, 88). Fagositozdan sorumlu başlıca hücreler akut enflamasyon sürecinde nötrofillerken, kronik enflamasyonda makrofaj sayısında artış görülür. Makrofajlar, kronik enflamasyonun baskın hücreleridir ve periodontal hastalık gibi uzun süreli kronik enflamasyon durumunda sayıları artar. Fagositoz özelliklerinin yanında, antijen sunumu ve pro-enflamatuvar sitokinlerin (IL-1, TNF- α ve IL-6 gibi) ve PGE₂ üretimi fonksiyonlarına sahiptirler (89-92). Monosit/makrofaj sisteminde hücreler,

pro-enflamatuvar etkili M1 makrofaj ya da anti-enflamatuvar ve erken iyileşme döneminde etkili M2 makrofaj alt gruplarına farklılaşabilirler. Periodontitis patogeneğinde, M1 ve M2 makrofajlar, Th1/Th2 polarizasyonu ile benzer formüle edilirler. M1 makrofajlar “*killer*” olarak isimlendirilirken; M2 makrofajlar “*builder*” olarak tanımlanmaktadır (93, 94). Makrofajların, nötrofillerin kemoatraktan faktörlerine yanıt vermesinin yanında; transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) da makrofajlar için güçlü bir kemoatraktandır (95).

Katyonik antimikrobiyal peptitler olan defensinler, insanlarda α ve β olmak üzere iki alt grupta tanımlanmıştır (96). PMNL tarafından α -defensinler, epitel hücrelerinden ise β -defensinler üretilir (97, 98). β -defensinlerin gram negatif ve gram pozitif bakterilere, çeşitli zarflı virüslere ve mantarlara karşı antimikrobiyal özellikleri tanımlanmıştır (98). Ayrıca literatürde, başlangıç immün yanıtın önemli bir molekülü olan β -defensinlerin, nötrofiller ve mast hücreleri üzerine kemotaktik etkileri olduğu bilgisine yer verilmiştir (99-101). Dişeti epitelinin granüler tabakasında bulunan β -defensin-1’in, insan dişeti dokusundan sürekli salındığı bilinmektedir (98, 102). Yapılan çalışmaların bir kısmında, β -defensin miktarının enflamasyon varlığında arttığı rapor edilmişken (103); bazı çalışmalarda β -defensin miktarının iltihaplı dokularda artmadığı ileri sürülmüştür (104).

Periodontitis oluşumunu önlemek için konağa ait savunma mekanizmaları (nötrofil migrasyonu, antikor üretimi, kompleman aktivasyonu, sitokinler gibi) aktive olur. Enflamatuvar yanıt, bir taraftan koruyucu rol oynarken; artmış antikor ve sitokinler enflamasyon dengesini konak aleyhine bozarak, dokularda yıkıma sebep olur (87, 105, 106).

2.5. Periodontal Hastalıkta Sitokinlerin Rolü

Konağın bakteriler tarafından uyarılması sonucunda iltihabın başlaması ve ilerleme süreçleri sitokinler tarafından düzenlenmektedir (63, 107). Çözünebilir moleküller olan sitokinler, iltihabi yanıtı düzenleme görevlerinin yanı sıra; yara iyileşmesi, hematopoezis gibi birçok biyolojik sürece de katkıda bulunurlar. İmmün sistem hücreleri, fibroblastlar, epitel hücreleri, dendritik hücreler, keratinositler gibi

birçok hücre tipinden salgılanan sitokinler, düşük moleküler ağırlıklı protein veya glukoproteinlerdir. Lökositleri aktive eden bu mediyatörlere “interlökin” adı verilmiştir. Sitokinler, farklı hedef hücrelerin fonksiyonlarını düzenler. Efektör hücrelerin proliferasyonu ve aktivasyonunu artırır veya azaltabilirler (107-110).

Anti- ve pro-enflamatuvar sitokinlerden oluşan sitokin ağı iltihabi ve immün yanıtı yönetmektedir. Anti-enflamatuvar sitokinler, pro-enflamatuvar sitokinlerin yanıtını dengeleyerek periodontal enflamasyonu düzenlerler (109, 111). Sağlık durumunda pro- ve anti-enflamatuvar sitokinler arasında dinamik bir denge gözlenmektedir. Romatoid artrit, periodontitis gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda patogenezi, anti-enflamatuvar yanıtın yetersiz olması ya da olmaması sonucunda gözlenen artmış pro-enflamasyon tablosuyla açıklayabiliriz (111-113). Periodontal dokuların immünolojisinde çalışılmış, başlıca pro- ve anti-enflamatuvar sitokinler Tablo 2.1.’de belirtilmiştir.

Önceleri Th hücrelerinin, Th1 ve Th2 olmak üzere iki polarize formu olduğu bilinmekteydi. Th1 hücreleri, IFN- γ , IL-2 ve TNF- α sentezleyerek; fagosit bağımlı enflamasyonu, makrofaj aktivasyonunu, hücre sitotoksitesini artırarak, hücrel immüniteyi aktive ederler. Th2 hücreler ise IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 gibi anti-enflamatuvar sitokinleri sentezlerler. Ayrıca immünglobulin üretimini de regüle ederler. Eozinofil farklılaşmasını aktive edip, fagositleri inhibe ederek, humoral immün yanıtı indüklerler (114-116). Daha sonradan yeni bir Th formu olarak Th17 bulunmuştur. Th17 hücreleri, IL-17A, IL-17F, IL-21 ve IL-22 sentezlerler. İlâveten, nötrofil ve makrofaj kemokin sinyal yollarına etki ederek, hücre dışı patojenlere karşı savunma mekanizmasını aktive ederler (117, 118).

Tablo 2.1. Periodontal dokularda sıklıkla incelenen pro- ve anti-enflamatuvar sitokinler

Pro-enflatuvar sitokinler	Anti-enflamatuvar sitokinler
IL-1	IL-1ra
TNF- α	IL-4
IL-6	IL-10
İnterferon- γ (IFN- γ)	IL-13
IL-17	IL-11
IL-8	TGF – β
IL-12	
IL-2	
IL-18	

Romatoid artrit, tip 1 diyabet ve multiple sklerozis Th1 hücrelerin aktive olduğu hastalıklar iken; alerji ve astım Th2 hücrelerin etkin olduğu hastalıklardır (119). Periodontal dokularda yapılan çalışmalarda ise Th1/Th2 dengesinin, periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (120). Periodontitisli hastalarda Th1 hücrelerden sentezlenen sitokinler sıklıkla daha fazla tespit edilirken; Th2 hücrelerinden sentezlenen sitokinler daha az miktarda ölçülmüştür (121). Bir başka çalışmada periodontitisli hastaların Th profili incelendiğinde, periodontitisli hastalarda sağlıklı bireylere göre istatistiksel anlamlı olarak Th1 ve Th17 hücrelerinin daha fazla olduğu belirtilmiştir (122). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, Th1/Th2 dengesinin Th1 lehine dönüşmesinin gingivitisten periodontitise geçişi hızlandırdığı, Th2 lehine dönüşmesinin ise gingivitis lezyonunun periodontitise geçişini durdurduğu sonucuna varılmıştır (123). Bunun yanında periodontal hastalığın Th1 ve Th17 baskın bir hastalık olabileceği yorumları yapılmıştır (122).

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. Klinik Çalışmalar

3.1.1. Hasta Seçimi

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Göğüs Hastalıkları Bölümü'nde tedavileri ve takibi yapılan kistik fibrozis hastalarından çalışma protokolünü kabul eden hastalar ile Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda tedavileri yürütülen ve çalışma protokolünü kabul eden gönüllü sağlıklı çocuk hastalar üzerinde yürütüldü.

Aşağıdaki belirtilen kriterlere sahip olan bireyler çalışmaya dahil edildi:

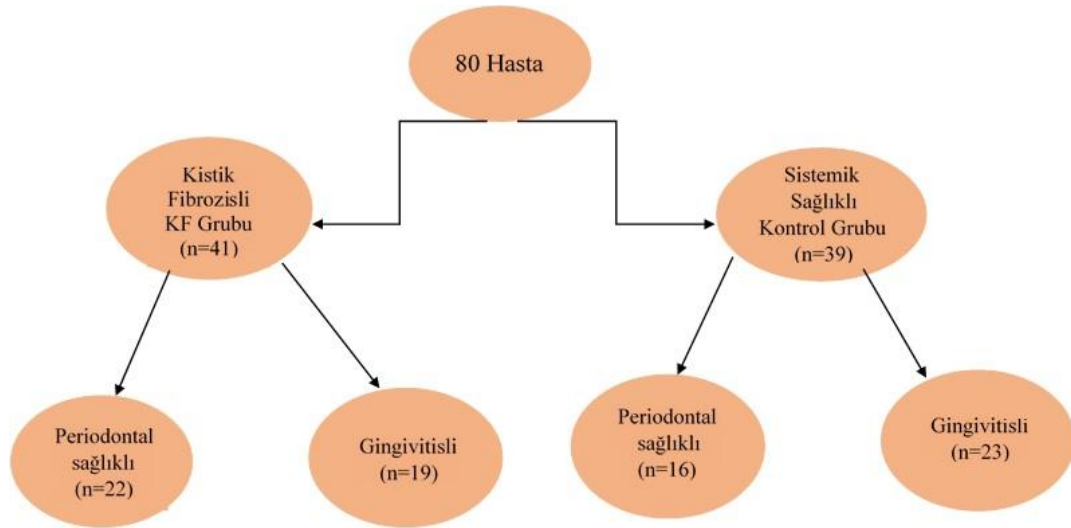
- ✓ Son 6 ay içerisinde herhangi bir periodontal tedavi görmemiş olan,
- ✓ Örneklemeden önceki 3 ay boyunca çalışma sonuçlarını etkileyebilecek ilaç (gargara, antibiyotik, kortikosteroid) kullanmayan,
- ✓ Sistemik olarak sağlıklı (kontrol grubu için),
- ✓ Sigara kullanmayan,
- ✓ 6 ve 18 yaş arası çocuk hastalar.

Tüm bireylere çalışma öncesinde hastalıklarının durumu, çalışmanın önemi ve yapılacak uygulama hakkında bilgi verilerek hastaların onayı alındı. Bu çalışmada yürütülen her türlü işlem 09/08/2016 tarihli, GO 16/489 numaralı Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı dahilinde uygulandı.

3.1.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

Çalışma gruplarının sınıflandırılması ve periodontal hastalıkların tanısı Amerikan Periodontoloji Akademisi ve Avrupa Periodontoloji Birliği tarafından 2017 yılında düzenlenen çalıştay ve hazırlanan konsensüs raporlarında belirlenen

kriterlere göre yapıldı. Kriterlere uyan ve çalışma protokollerini kabul eden toplam 80 hasta, 41 kistik fibrozisli (KF grubu) ve 39 sistemik sağlıklı (kontrol grubu) olmak üzere 2 grupta değerlendirildi. KF ve kontrol gruplarındaki bireyler, gingival indekslerin 1'den küçük veya büyük olmasına göre periodontal sağlıklı ve gingivitisli bulunan hastalar olarak 2'şer alt gruba ayrılarak değerlendirildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Çalışma gruplarının şematik dağılımı

3.1.3. Bireylerin Periodontal Durumlarının Belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen bireylerin periodontal durumlarının belirlenmesi amacıyla ağızdaki tüm dişlerin sondlamada cep derinliği miktarı (CD), klinik ataçman seviyesi (KAS), plak indeksi (Pİ) ve gingival indeks (Gİ) değerleri ile sondlamada kanama (SK) varlığı veya yokluğu kaydedildi. Gİ ağız ortalaması değeri 1'den fazla olan bireyler gingivitisli olarak kabul edildi.

Yapılan tüm klinik ölçümler, DOS örneklerinin alınmasını takiben yapılmıştır. Ölçümlerin yapılmasından sonra hastalardan mikrobiyolojik incelemeler için subgingival ve supragingival plak örnekleri alınmıştır.

Cep Derinliğinin Belirlenmesi

Cep derinliğinin belirlenmesi amacıyla periodontal sond kullanıldı (Michigan O Color-Coded Probe, Hu-Friedy, Chicago, IL). Ölçümler sırasında sondun kendi ağırlığı ile dişin uzun aksına paralel olarak kullanılmasına özen gösterildi.

CD her diş için 6 bölgeden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual/palatal, mid-lingual/palatal, disto-lingual/palatal) ölçülerek milimetre (mm) cinsinden kaydedildi. Her diş için CD değeri, ölçülen 6 değerın ortalaması alınarak elde edildi.

Klinik Ataçman Seviyesinin Belirlenmesi

KAS'ın belirlenmesi amacıyla mine sement sınırı ile cep tabanı arasındaki mesafe periodontal sond ile ölçülerek, mm olarak kaydedildi.

KAS her diş için 6 bölgeden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual/palatal, mid-lingual/palatal, disto-lingual/palatal) kaydedildi. Her diş için KAS değeri, ölçülen 6 değerin ortalaması alınarak elde edildi.

Dental Plak Varlığı ve Birikim Düzeyinin Belirlenmesi

Dişlerin etrafındaki plak birikimi Silness ve Løe tarafından geliştirilen Pİ kullanılarak kaydedildi (124). Buna göre;

0. Plak bulunmadığını,
1. Serbest dişeti kenarına ve komşu diş yüzeyine tutunmuş film şeklinde ve periodontal sond yardımı ile farkedilebilen 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 dişin Pİ değeri, bir diş için 4 bölgeden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mid-lingual/palatal) kaydedilen skorların ortalaması ile elde edildi. Her hasta için Pİ değeri aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$Pİ = \text{Tüm dişlerdeki Pİ toplamı} / \text{Diş sayısı toplamı}$$

Dişetinde Klinik İltihap Varlığı ve Şiddetinin Belirlenmesi

Dişlerdeki klinik iltihap varlığı/şiddeti Løe ve Silness tarafından geliştirilen Gİ kullamlararak kaydedildi (125). Buna göre;

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 belirtmektedir.

Ölçüm yapılan her dişin Gİ değeri, bir diş için 4 bölgeden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mid-lingual/palatal) kaydedilen skorların ortalaması ile elde edildi. Her hasta için Gİ değeri aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$Gİ = \text{Tüm dişlerdeki Gİ toplamı} / \text{Diş sayısı toplamı}$$

Sondlamada Dişeti Kanamasının Belirlenmesi

Sondlama ile meydana gelen dişeti kanamasının değerlendirilmesinde Ainamo ve Bay tarafından geliştirilen Sondlamada Kanama İndeksi (SKİ) kullanıldı (126). Bu indekse göre;

Pozitif (+), Sondlamada kanama varlığını,

Negatif (-), Sondlamada kanama olmadığını göstermektedir.

SK periodontal sond kullanılarak cep içerisinde sondun kendi ağırlığına basınç uygulamasını takiben her dişin 4 bölgesi için (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mid-lingual/palatal) değerlendirilerek pozitif veya negatif olarak belirlendi ve yüzde olarak kaydedildi. Her hasta için sondlamada kanama değeri şu şekilde hesaplandı;

SK yüzdesi = Sondlamada kanaması olan diş sayısı x 100 / Toplam diş sayısı

3.1.4. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Elde Edilmesi

DOS örnekleri hasta ve kontrol grupları için üst çene ön bölgedeki 6 diştin steril kağıt şeritler (Periopaper strips, OraFlow, Amityville, New York, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak elde edildi. Örnekleme her dişin bir cep bölgesinden Rudin ve arkadaşlarının (127) tanımladığı yöntem ile yapıldı. Örnekleme bölgesi rulo pamuk ile izole edildikten ve supragingival plak uzaklaştırıldıktan sonra, bölge plak ve salya kontaminasyonunun önlenmesi için nazıkçe hava ile kurutuldu. Kağıt şeritler mekanik travma yaratmamaya özen göstererek dişeti oluşuna yaklaşık 1 mm derinliğinde yerleştirilerek, 30 saniye standart örnekleme süresi tanındı. Buharlaştırma riskinin önlenmesi için kağıt şeritler hemen önceden kalibre edilmiş olan elektronik gingival sıvı ölçüm cihazına (Periotron 8000, OraFlow, Amityville, New York, Amerika Birleşik Devletleri) transfer edilerek hacim değerleri ölçüldü. Yapılan ölçüm değerleri yazılım programı (MLCONVERT.EXE software version 2.52, OraFlow, Amityville, New York, Amerika Birleşik Devletleri) yardımı ile mikrolitreye çevrildi. Her hasta için elde edilen total DOS hacmi kaydedildi.

3.1.5. Plak Örneklerinin Elde Edilmesi

Klinik periodontal muayeneden sonra, supragingival plak örnekleri steril küretler yardımıyla, subgingival plak örnekleri ise steril “paper point”lerin (Diadent,

Kore) cep tabanına yerleştirilip 20 saniye bekletilmesiyle elde edildi (128, 129). Elde edilen plak örnekleri supragingival veya subgingival ayrılmaksızın içerisinde 0,1 ml steril distile su olan 2 ayrı mikrosantrifüj tüpüne konuldu. Bu örneklerden biri kültür açısından inceleme yapılmak üzere kullanıldı. Diğeri ise PCR ile moleküler düzeyde *P. aeruginosa* 'nın varlığının araştırılması amacıyla -20°C'de saklandı (130).

3.2. DOS Örneklerinde Enflamatuvar Mediyatörlerin Enzyme Linked Sorbent Assay (ELISA) Yöntemi ile Belirlenmesi

Elde edilen DOS örneklerinin ekstraksiyonu için mikrosantrifüj tüpler içerisinde saklanan steril kağıt şeritlerin turuncu bölgeleri kesilerek uzaklaştırıldı. Kalan kağıt şerit örnekleri 1200 µl “Phosphate Buffered Saline” (PBS) kullanılarak seyreltildi ve vortekslendi. Takiben örnekler 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Örneklerdeki IL-1β, IL-10, IL-17, KFTR, nötrofil elastaz (ELA2) ve β-defensin-1 konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla ELISA yöntemi kullanıldı. Sitokinlere özel ELISA kitleri (USCN, Wuhan USCN Business Co. Ltd., Çin) ile değerlendirmeler gerçekleştirildi.

3.2.1. KFTR'nin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

1. Standartların hazırlanması için 1 ml standart seyreltici ilave edilip 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
2. Standart stok solüsyonu 20 ng/ml konsantrasyondan 10 ng/ml konsantrasyona seyreltildi.
3. 7 tüp içine 500 µl standart dilüsyon ekleyip, her bir tüpten 500 µl alarak seri dilüsyon yapıldı.
4. Hazırlanan seri dilüsyon konsantrasyonları: 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,312, 0,156 ve son tüp 0 (blank) olarak düzenlendi.
5. Hazırlanan standartlar, blank ve örnekler 100'er µl uygun kuyucuklara eklendi.

6. 1 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonunda kuyucuklardan sıvı uzaklaştırıldı, yıkama yapılmadı.
8. Reaktif A solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
9. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 3 kez yıkama yapıldı.
10. Reaktif B solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
11. 30 dakika 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
12. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 5 kez yıkama yapıldı.
13. 90 µl tetrametil-benzidin substrat solüsyonu (TMB) tüm kuyucuklara eklendi.
14. Plaklar 37°C sıcaklıkta yaklaşık 10 dakika kadar inkübe edildi. İnkübasyon sırasında plakların ışığa maruz kalmasından kaçınıldı.
15. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi.
16. Her kuyucuğun değeri Spectrostar Nano (BMG Labtech, Almanya) ile 450 nm dalga boyu ile absorbans değerleri ölçüldü. Logaritmik-logaritmik grafikleri Spectrostar Nano Analysis (BMG Labtech, Almanya) programı yardımıyla hesaplanarak konsantrasyon değerleri elde edildi.

3.2.2. IL-1β'nın ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

1. Standartların hazırlanması için 1 ml standart seyreltici ilave edip 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
2. Standart stok solüsyonu 2000 pg/ml konsantrasyondan 1000 pg/ml konsantrasyona seyreltildi.

3. 7 tüp içine 500 µl standart dilüsyon ekleyip, her bir tüpten 500 µl alarak seri dilüsyon yapıldı.
4. Hazırlanan seri dilüsyon konsantrasyonları: 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,2, 15,6 ve son tüp 0 (blank) olarak düzenlendi.
5. Hazırlanan standartlar, blank ve örnekler 100'er µl uygun kuyucuklara eklendi.
6. 1 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonunda kuyucuklardan sıvı uzaklaştırıldı, yıkama yapılmadı.
8. Reaktif A solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
9. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 3 kez yıkama yapıldı.
10. Reaktif B solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
11. 30 dakika 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
12. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 5 kez yıkama yapıldı.
13. 90 µl TMB substrat solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi.
14. Plaklar 37°C sıcaklıkta yaklaşık 10 dakika kadar inkübe edildi. İnkübasyon sırasında plakların ışığa maruz kalmasından kaçınıldı.
15. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi.
16. Her kuyucuğun değeri Spectrostar Nano (BMG Labtech, Almanya) ile 450 nm dalga boyu ile absorbans değerleri ölçüldü. Logaritmik-logaritmik grafikleri Spectrostar Nano Analysis (BMG Labtech, Almanya) programı yardımıyla hesaplanarak konsantrasyon değerleri elde edildi.

3.2.3. IL-10'un ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

1. Standartların hazırlanması için 1 ml standart seyreltici ilave edip 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
2. Standart stok solüsyonu 2000 pg/ml konsantrasyondan 500 pg/ml konsantrasyona seyreltildi.
3. 7 tüp içine 500 µl standart dilüsyon ekleyip, her bir tüpten 500 µl alarak seri dilüsyon yapıldı.
4. Hazırlanan seri dilüsyon konsantrasyonları: 500, 250, 125, 62,5, 31,2, 15,6, 7,8 ve son tüp 0 (blank) olarak düzenlendi.
5. Hazırlanan standartlar, blank ve örnekler 100'er µl uygun kuyucuklara eklendi.
6. 1 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonunda kuyucuklardan sıvı uzaklaştırıldı, yıkama yapılmadı.
8. Reaktif A solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
9. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 3 kez yıkama yapıldı.
10. Reaktif B solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
11. 30 dakika 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
12. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 5 kez yıkama yapıldı.
13. 90 µl TMB solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi.
14. Plaklar 37°C sıcaklıkta yaklaşık 10 dakika kadar inkübe edildi. İnkübasyon sırasında plakların ışığa maruz kalmasından kaçınıldı.

15. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi.

16. Her kuyucuğun değeri Spectrostar Nano (BMG Labtech, Almanya) ile 450 nm dalga boyu ile absorbans değerleri ölçüldü. Logaritmik-logaritmik grafikleri Spectrostar Nano Analysis (BMG Labtech, Almanya) programı yardımıyla hesaplanarak konsantrasyon değerleri elde edildi.

3.2.4. ELA2'nin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

1. Standartların hazırlanması için 1 ml standart seyreltici ilave edip 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

2. Standart stok solüsyonu 96 ng/ml konsantrasyondan 12 ng/ml konsantrasyona seyreltildi.

3. 7 tüp içine 500 µl standart dilüsyon ekleyip, her bir tüpten 500 µl alarak seri dilüsyon yapıldı.

4. Hazırlanan seri dilüsyon konsantrasyonları: 12, 6, 3, 1,5, 0,75, 0,38, 0,19 ve son tüp 0 (blank) olarak düzenlendi.

5. Hazırlanan standartlar, blank ve örnekler 100'er µl uygun kuyucuklara eklendi.

6. 1 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.

7. İnkübasyon sonunda kuyucuklardan sıvı uzaklaştırıldı, yıkama yapılmadı.

8. Reaktif A solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.

9. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenererek 3 kez yıkama yapıldı.

10. Reaktif B solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
11. 30 dakika 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
12. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 5 kez yıkama yapıldı.
13. 90 µl TMB substrat solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi.
14. Plaklar 37°C sıcaklıkta yaklaşık 10 dakika kadar inkübe edildi. İnkübasyon sırasında plakların ışığa maruz kalmasından kaçınıldı.
15. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi.
16. Her kuyucuğun değeri Spectrostar Nano (BMG Labtech, Almanya) ile 450 nm dalga boyu ile absorbans değerleri ölçüldü. Logaritmik-logaritmik grafikleri Spectrostar Nano Analysis (BMG Labtech, Almanya) programı yardımıyla hesaplanarak konsantrasyon değerleri elde edildi.

3.2.5. IL-17'nin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

1. Standartların hazırlanması için 1 ml standart seyreltici ilave edip 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
2. Standart stok solüsyonu 2000 pg/ml konsantrasyondan 1000 pg/ml konsantrasyona seyreltildi.
3. 7 tüp içine 500 µl standart dilüsyon ekleyip, her bir tüpten 500 µl alarak seri dilüsyon yapıldı.
4. Hazırlanan seri dilüsyon konsantrasyonları: 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,2, 15,6 ve son tüp 0 (blank) olarak düzenlendi.
5. Hazırlanan standartlar, blank ve örnekler 100'er µl uygun kuyucuklara eklendi.

6. 1 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonunda kuyucuklardan sıvı uzaklaştırıldı, yıkama yapılmadı.
8. Reaktif A solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
9. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 3 kez yıkama yapıldı.
10. Reaktif B solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
11. 30 dakika 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
12. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 5 kez yıkama yapıldı.
13. 90 µl TMB substrat solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi.
14. Plaklar 37°C sıcaklıkta yaklaşık 10 dakika kadar inkübe edildi. İnkübasyon sırasında plakların ışığa maruz kalmasından kaçınıldı.
15. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi.
16. Her kuyucuğun değeri Spectrostar Nano (BMG Labtech, Almanya) ile 450 nm dalga boyu ile absorbans değerleri ölçüldü. Logaritmik-logaritmik grafikleri Spectrostar Nano Analysis (BMG Labtech, Almanya) programı yardımıyla hesaplanarak konsantrasyon değerleri elde edildi.

3.2.6. β-defensin-1'in ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

1. Standartların hazırlanması için 1 ml standart seyreltici ilave edip 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
2. Standart stok solüsyonu 40 ng/ml konsantrasyondan 20 ng/ml konsantrasyona seyreltildi.

3. 7 tüp içine 500 µl standart dilüsyon ekleyip, her bir tüpten 500 µl alarak seri dilüsyon yapıldı.
4. Hazırlanan seri dilüsyon konsantrasyonları: 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,312 ve son tüp 0 (blank) olarak düzenlendi.
5. Hazırlanan standartlar, blank ve örnekler 100'er µl uygun kuyucuklara eklendi.
6. 2 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonunda kuyucuklardan sıvı uzaklaştırıldı, yıkama yapılmadı.
8. Reaktif A solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
9. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 3 kez yıkama yapıldı.
10. Reaktif B solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi.
11. 30 dakika 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.
12. Solüsyon aspire edildi, 350 µl yıkama solüsyonu ile her yıkama arasında 1-2 dakika beklenerek 5 kez yıkama yapıldı.
13. 90 µl TMB substrat solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi.
14. Plaklar 37°C sıcaklıkta yaklaşık 10 dakika kadar inkübe edildi. İnkübasyon sırasında plakların ışığa maruz kalmasından kaçınıldı.
15. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi.
16. Her kuyucuğun değeri Spectrostar Nano (BMG Labtech, Almanya) ile 450 nm dalga boyu ile absorbans değerleri ölçüldü. Logaritmik-logaritmik grafikleri Spectrostar Nano Analysis (BMG Labtech, Almanya) programı yardımıyla hesaplanarak konsantrasyon değerleri elde edildi.

3.3. Bakteri Plağında Mikrobiyolojik Yöntemlerle *P. aeruginosa* Varlığının Araştırılması

Araştırmanın bu bölümü Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.3.1. Bakteri Plağının Kültürü

Bakteri plak örnekleri 0,1 ml steril distile su içerisindeki mikrosantrifüj tüplerine alındıktan sonra 1 saat içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Mikrosantrifüj tüpleri 1 dakika 12.000 rpm'de vortekslendi. Her bir örnek 10 µl örnek hacmi ile kanlı agar, 'Eosin Methylene Blue' (EMB) agar ve 'Mueller Hinton Buyyon' (MHB) besiyerine ekildi. Besiyeri 35°C'de bir gece inkübe edildi. Ertesi gün besiyerlerinde üreyen kolonilerde koloni sayımı yapıldı. Üreyen bakteri kolonileri tür düzeyinde 'Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization' (MALDI-TOF) yöntemi ile tanımlandı.

MHB besiyerinde üreyen bakteriler ertesi gün kanlı agar ve EMB agara ekilerek inkübe edildi. Üreyen koloniler sayılarak MALDI-TOF (Biomerieux, Fransa) yöntemi ile tür düzeyinde tanımlandı.

3.3.2. Bakteri Plağında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile *P. aeruginosa* Varlığının Araştırılması

Bakteri plak örnekleri 0,1 ml steril distile su içerisindeki mikrosantrifüj tüplerine alındıktan sonra PCR yöntemi uygulanıncaya kadar -20°C'de saklandı. DNA izolasyon yöntemi kaynatma ve Laine yöntemi olarak 2 ayrı yöntem kullanılarak gerçekleştirildi.

Kaynatma Yöntemi ile DNA İzolasyonu

1. Bakteri plağı örneklerinden alınan 200 µl örnek süspansiyonu, 15 dakika 3000 xg'de santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı döküldü. Kalan kısım üzerine 1 ml

Tris/EDTA (TE) tamponu eklenerek vortekslendi ve mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.

2. Süspansiyon tekrar 1 dakika 10.000 xg'de santrifüj edildi ve üstteki sıvı atıldı.

3. Çökelti üzerine 1 ml TE tamponu eklenerek birkaç kez pipetaj işlemi uygulandı. Tüpler vortekslendi ve mikrosantrifüjde 1 dakika santrifüj edildi.

4. Üstte kalan sıvı alındıktan sonra yıkama işlemi (4. basamak) en az 3 kez tekrarlandı. En son yıkamadan sonra üstteki sıvı atıldı, çökeltiye 100 µl TE tamponu eklendi ve tüpler ısı bloğuna konarak 15 dakika 100°C'de bekletildi.

5. Bu işlemi takiben bakteriler mikrosantrifüjde 1 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı çökeltiye dokunmadan yeni bir steril mikrosantrifüj tüpüne alındı ve elde edilen DNA, ileri moleküler testlerin uygulanması aşamasına kadar -20°C'de saklandı.

Laine Yöntemi ile DNA İzolasyonu

Bakteri plağı örneklerinden alınan 200 µl örnek süspansiyonu 300 xg'de, 10 dakika santrifüj edildi. 50mM NaOH çözeltisinden 100 µl konularak, 10 dakika kaynatıldı. Örnekler 14 µl 1 M TRIS (pH 7,5) ile nötralize edilerek 14.000 xg'de 3 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı steril bir santrifüje aktarılarak PCR yöntemi gerçekleştirilene kadar -20°C'de saklandı (131).

***OprL* Geninin PCR Protokolü**

PCR protokolü belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. Kullanılan primerler 100 pmol/µl sulandırıldı (132). Pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanıldı.

Kullanılan primerler:

PS 1 F- ATG AAC AAC GTT CTG AAA TTC TCT GCT-3'

PS 2 R-5'-CTT GCG GCT GGC TTT TTC CAG-3' (250 bp)

PCR Karışımı

Kullanılan PCR karışımının içeriği tablo 3.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 3.1. *OprL* geni için hazırlanan PCR karışımının içeriği

Malzeme	25 µl	Son konsantrasyon
Su	73,7 µl	
Taq DNA tampon (10x)	2,5 µl	1x
MgCl ₂ (25mM)	2,5 µl	2,5 mM
dNTP (10mM)	0,5 µl	200 µM
PrimerF (100 pmol)	0,3 µl	30 pmol
PrimerR (100 pmol)	0,3 µl	30 pmol
Taq polimeraz (5U/µl)	0,4 µl	2 U
DNA	20 µl	

PCR Koşulları

DNA amplifikasyonu ThermalCycler (Global Genomics Partner, MyGenie96, Amerika Birleşik Devletleri) cihazı ile gerçekleştirildi. Amplifikasyon programı;

1. İlk denatürasyon 2 dakika 95°C’de gerçekleştirildikten sonra,
2. Denatürasyon 40 saniye 94°C’de,
3. Primer birleşmesi 60 saniye 57°C’de,
4. Amplifikasyon 60 saniye 72°C’de,

olacak şekilde toplam 30 döngü olarak programlandı. Amplifikasyon sonunda 72°C’de 2 dakika son uzamanın ardından reaksiyon sonlandırıldı.

Agaroz Jel Elektrofrez

Steril şekilde hazırlanan 50xTAE (242 g TRİS; 57,1 ml glasiyal asetik asit, 0,5 M EDTA, pH 8) çözeltisinden 20 ml alınarak 1 l distile su ile karıştırıldı ve 1xTAE tamponu hazırlandı.

PCR ürünlerini agaroz jel elektrofrezde yürütmek için agaroz jel, 220 ml 1xTAE %1,5 oranında agaroz içerecek şekilde hazırlandı. Tamponun içerisinde agaroz eritildikten sonra 45-50°C’ye soğutuldu ve içerisine 25 µl etidyum bromür

çözeltisi eklendi. Düz bir zeminde agarozun döküleceği kalıp hazırlandı ve jel kalıba dökülerek katılaşma beklendi. Önceden hazırlanan 1xTAE tamponu, elektroforez tankının içine yerleştirilmiş olan jelin üzerini kapatacak şekilde döküldü.

PCR ürünlerinin herbirinden 10 µl alındı ve 10 µl orange G yükleme tamponu ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi. Moleküler ağırlık belirteci olarak 100 bp ladder (New England Biolabs Inc., Ipswich, MA, Amerika Birleşik Devletleri) kullanıldı. Yürütme işlemi 120 voltta 120 dakika gerçekleştirildi. Yürütülen jel distile su ile çalkalanarak fazla boyanın uzaklaşması sağlandı ve jel BioSpectrum 500 (UVP, Cambridge, Birleşik Krallık) ile ultraviyole ışık altında incelendi. PCR ürünlerindeki *OprL* geninin varlığı araştırıldı.

4. BULGULAR

4.1. Klinik ve İmmünolojik Bulgular

Çalışmamız, 39 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubu ve 41 kistik fibrozis hastası çocuktan oluşan deney grubu üzerinde yürütüldü. Bireylerden DOS örnekleri toplanarak, DOS hacimleri ölçüldü. Daha sonraki aşamada tüm ağız cep derinliği, plak indeksi, gingival indeks, sondlamada kanama yüzdesi kaydedildi. Mikrobiyolojik inceleme için plak örnekleri toplandı. DOS örneklerinde ELA2, KFTR, IL-1 β , IL-10, IL-17 ve β -defensin-1 düzeyleri ELISA metoduyla saptandı.

Deney ve kontrol grubunu oluşturan bireyler, gingival indeks ortalamalarına göre periodontal sağlıklı ve gingivitisli olarak alt gruplara ayrıldı. Toplam gingival indeks ortalaması 1'den az ($G\dot{I}<1$) olan bireyler periodontal sağlıklı, 1'e eşit ve 1'den büyük ($G\dot{I}\geq 1$) olan bireyler gingivitisli grubuna dahil edildi.

KF grubu ve kontrol grubuna ait yaş ortalamaları sırasıyla $10,09\pm 3,18$ ve $9,41\pm 2,20$ olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). KF grubunu oluşturan bireylerin, 21'i kız (%51,2) ve 20'si erkek (%48,8), kontrol grubunu oluşturan bireylerin ise 23'ü kız (%59) ve 16'sı erkekti (%41). Gruplar arası cinsiyet dağılımı açısından da anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). KF grubundan 22 hasta (%53,7) periodontal açıdan sağlıklı bulunurken; 19 hastada (%46,3) gingivitis saptandı. Kontrol grubundan ise 16 çocuk (%41) periodontal sağlıklı olarak belirlenirken; 23 çocuk (%59) gingivitisliydi. Ki kare testi ile değerlendirildiğinde kontrol ve KF gruplarındaki, periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin dağılımı açısından istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). KF grubunun periodontal sağlıklı bireylerinin 13'ü (%59,1) kız, 9'u (%40,9) erkek; aynı grubun gingivitisli bireylerinin 8'i (%42,1) kız, 11'i (%57,9) erkekti. Kontrol grubunun ise periodontal sağlıklı bireylerinin 9'u (%56,3) kız, 7'si (%43,8) erkek iken; gingivitisli bireylerinin 14'ü (%60,9) kız, 9'u (%39,1) erkekti. Alt gruplar ki kare testi ile değerlendirildiğinde cinsiyetler arası istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Çalışma gruplarının yaş ve cinsiyete göre dağılımı tablo 4.1.'de özetlendi.

Tablo 4.1. Çalışma gruplarının yaş, cinsiyet ve periodontal duruma göre dağılımı

	KF GRUBU (n=41)	KONTROL GRUBU (n=39)
YAŞ (ort±ss)	10,09±3,18	9,41±2,20
KIZ	21	23
ERKEK	20	16
TOPLAM	41	39
PERİODONTAL SAĞLIKLI	22	16
GİNGİVİTİSLİ	19	23
TOPLAM	41	39

Değişkenlerin Kolmogorov-Smirnov testine göre normal dağılım göstermediği belirlenirken; gruplar arası farklar parametrik olmayan analiz yöntemi olan Mann-Whitney *U* testi ile değerlendirildi. Hastaların klinik ölçüm ve değerleri Tablo 4.2.'de belirtildi.

Cep derinliği

Tüm ağız cep derinliği ortalaması KF grubunda 1,54±0,30 hesaplanırken, kontrol grubunda 1,60±0,22 olarak bulundu. Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,290$). Alt gruplar değerlendirildiğinde, KF grubundaki cep derinliği, periodontal sağlıklı bireylerde ortalama 1,41±0,25 mm olarak hesaplanırken, gingivitisli bireylerde 1,69±0,29 mm olarak ölçüldü. KF grubundaki bireyler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,000$). Kontrol grubundaki cep derinliği değerleri ise, periodontal sağlıklı bireylerde 1,44±0,16 mm iken, gingivitisli bireylerde 1,71±0,18 mm idi. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,000$). Periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin, KF ve kontrol grubu arasındaki farkları istatistiksel anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Hiçbir hastada klinik ataçman kaybı gözlenmedi.

Plak indeksi

Plak indeksi ortalaması KF grubunda 1,15±0,57, kontrol grubunda 1,20±0,39 olarak hesaplanırken; gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı

($p=0,199$). KF grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin plak indeksi ortalaması sırasıyla $0,83\pm0,32$ ve $1,53\pm0,56$ olarak bulundu. Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde ise sırasıyla $0,91\pm0,34$ ve $1,41\pm0,27$ olarak hesaplandı. KF grubundaki ve kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireyler arasındaki fark istatistiksel anlamlı bulundu ($p<0,05$). Periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin, KF ve kontrol grubu arasındaki farkları istatistiksel anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.2. Hastaların klinik ölçüm ve değerleri. *: KF veya kontrol grubundaki gingivitis ve periodontal sağlıklı alt gruplar arası fark istatistiksel anlamlı ($p<0,05$). #: Gingivitisli ve periodontal sağlıklı hastaların KF veya kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel anlamlı ($p<0,05$).

	KF GRUBU (n=41)		KONTROL GRUBU (n=39)	
	GİNGİVİTİSLİ (n=19)	PERİODONTAL SAĞLIKLI (n=22)	GİNGİVİTİSLİ (n=23)	PERİODONTAL SAĞLIKLI (n=16)
	ORTALAMA±STD. SAPMA	ORTALAMA±STD. SAPMA	ORTALAMA±STD. SAPMA	ORTALAMA±STD. SAPMA
CD (mm)	$1,69\pm0,29^*$	$1,41\pm0,25$	$1,71\pm0,18^*$	$1,44\pm0,16$
Pİ	$1,53\pm0,56^*$	$0,83\pm0,32$	$1,41\pm0,27^*$	$0,91\pm0,34$
Gİ	$1,39\pm0,36^*$	$0,70\pm0,14^{\#}$	$1,22\pm0,26^*$	$0,49\pm0,29$
SK%	$83,36^{\#}$	$5,27$	$57,23^*$	$9,93$

Gingival indeks

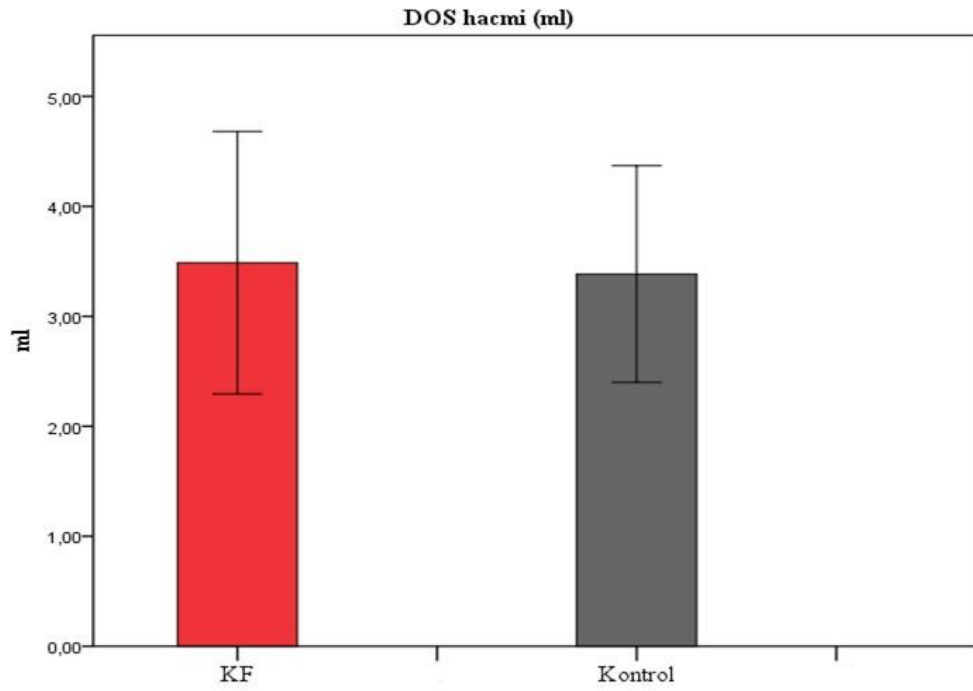
Gingival indeks ortalaması KF grubunda $1,02\pm0,44$ iken, kontrol grubunda $0,92\pm0,45$ olarak hesaplandı. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmadı ($p=0,822$). Alt gruplar incelendiğinde, KF grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde ortalama gingival indeks değeri $0,70\pm0,14$ ve $1,39\pm0,36$ olarak belirlendi. Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde ise ortalama $0,49\pm0,29$ ve $1,22\pm0,26$ olarak hesaplandı. Her iki gruptaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireyler arasındaki fark istatistiksel anlamlı bulundu ($p<0,05$). Periodontal sağlıklı bireylerin ortalama gingival indeks değerleri KF grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek hesaplandı ($p=0,035$). Gingivitisli bireylerin ortalama gingival indeks farkları, KF ve kontrol grupları arasında anlamlı bulunmadı ($p=0,107$).

Sondlamada kanama yüzdesi

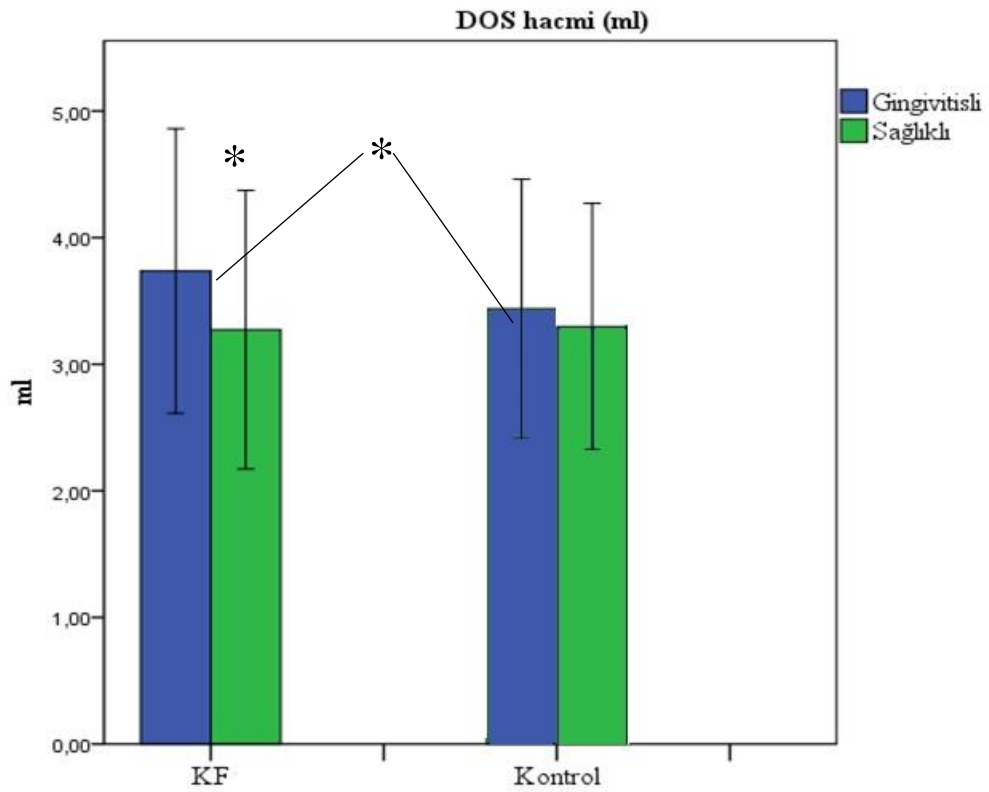
Sondlamada kanama yüzdesi KF grubunda ortalama %41,46 bulunurken, kontrol grubunda %37,82 olarak hesaplandı. Gruplar arası fark anlamlı değildi ($p=0,674$). Alt gruplar değerlendirildiğinde, sondlamada kanama yüzdeleri KF grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde ortalama %5,27 ve %83,36 olarak hesaplandı. Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde ise ortalama %9,93 ve %57,23 olarak belirlendi. KF ve kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireyler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Periodontal sağlıklı bireylerin ortalama sondlamada kanama yüzdeleri, KF ve kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı değilken ($p=0,140$); gingivitisli bireylerde istatistiksel anlamlı olarak KF grubunda daha yüksek hesaplandı ($p=0,017$).

DOS hacmi

Total DOS hacmi KF grubunda ortalama $3,49\pm 0,60$ ml hesaplanırken, kontrol grubunda $3,39\pm 0,49$ ml olarak hesaplandı. Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,512$) (Şekil 4.1). Alt gruplar incelendiğinde, KF grubundaki periodontal sağlıklı grubun ortalama total DOS hacmi $3,27\pm 0,55$ ml hesaplanırken, gingivitisli bulunan grupta $3,74\pm 0,56$ ml olarak ölçüldü. KF grubundaki bireyler arasındaki DOS hacmi farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p=0,006$). Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı bireylerin ortalama DOS hacmi $3,35\pm 0,49$ ml iken; gingivitisli bulunan bireylerde ise $3,44\pm 0,51$ ml bulundu. Kontrol grubundaki bireyler arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0,576$). Periodontal sağlıklı bireylerin DOS hacmi açısından, KF ve kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0,221$). KF grubundaki gingivitisli bireylerin DOS hacmi, kontrol grubundaki gingivitisli bireylere göre önemli derecede yüksek bulundu ($p<0,05$) (Şekil 4.2).



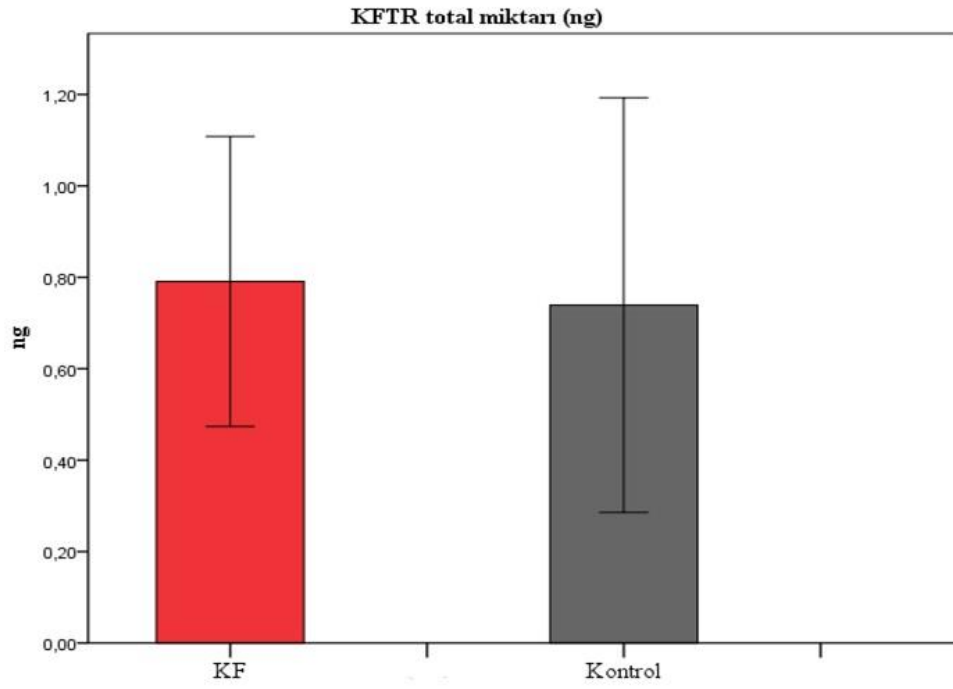
Şekil 4.1. KF ve kontrol gruplarının ortalama DOS hacim değerleri



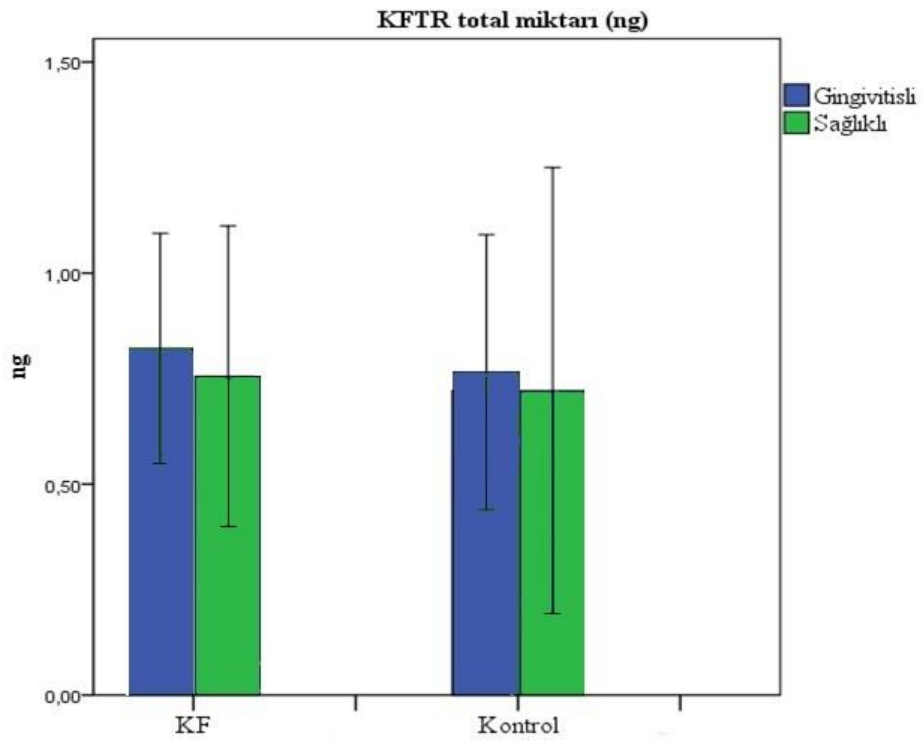
Şekil 4.2. KF ve kontrol gruplarının periodontal durumlarına göre ortalama DOS hacmi değerleri. *: İşaretli sütunlar arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ($p < 0,05$)

KFTR, ELA2, β -defensin-1 ve sitokin DOS total değerleri

KFTR: ELISA yöntemi ile değerlendirildiğinde; KFTR için ortalama total değer KF grubunda $0,79\pm 0,16$ ng, kontrol grubunda ise $0,74\pm 0,23$ ng olarak bulundu. KF ve kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel anlamlı bulunmadı ($p=0,590$) (Şekil 4.3.). KFTR ortalama total değeri alt gruplarda değerlendirildiğinde, KF grubundaki periodontal sağlıklı bireylerde $0,76\pm 0,18$ ng, KF grubundaki gingivitisli bireylerde ise $0,82\pm 0,14$ ng olarak tespit edildi. Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı bireylerde ortalama $0,72\pm 0,26$ ng iken, gingivitisli bireylerin ortalaması $0,76\pm 0,16$ ng olarak hesaplandı. KF grubundaki ($p=0,133$) ve kontrol grubundaki ($p=0,775$) bireyler arasındaki fark istatistiksel anlamlı bulunmadı. Periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalama KFTR değerlerinin farkları, KF ve kontrol grupları arasında anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 4.4.).

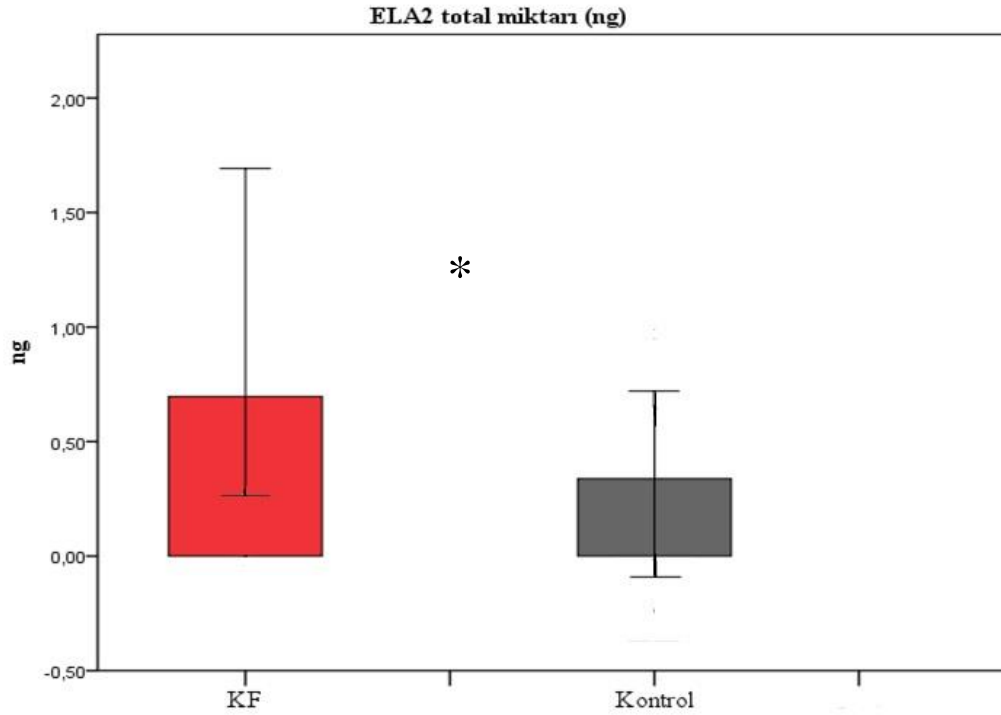


Şekil 4.3. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama KFTR düzeyleri

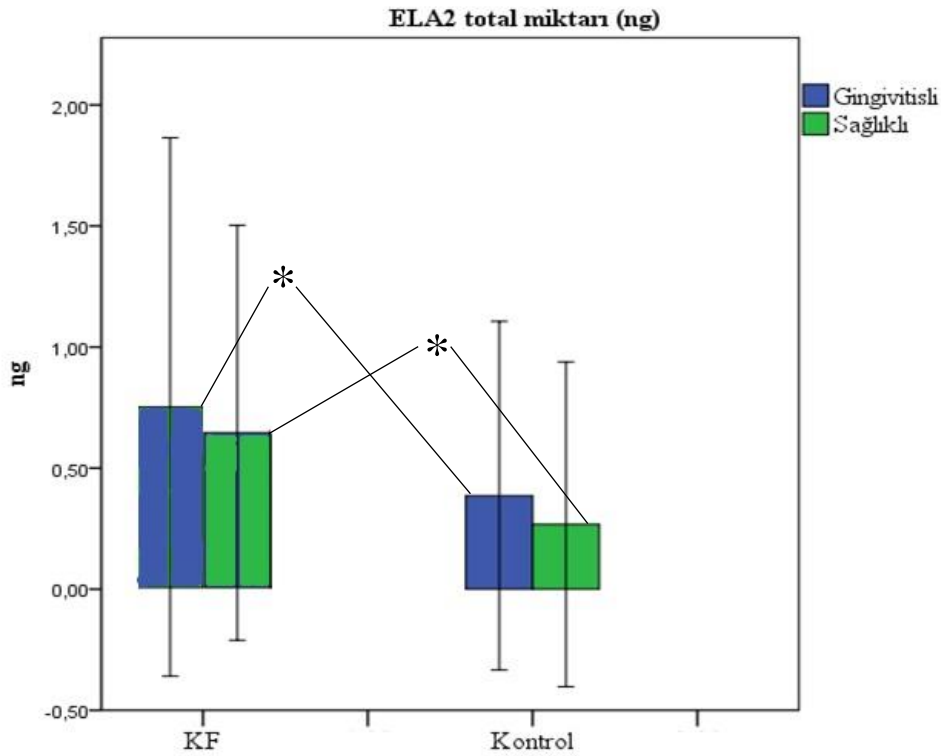


Şekil 4.4. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre KFTR düzeyleri

ELA2: ELA2 için total değer KF grubunda ortalama $0,70 \pm 0,50$ ng, kontrol grubunda $0,34 \pm 0,35$ ng olarak hesaplandı. Gruplar arasındaki fark istatistiksel anlamlı bulundu ($p=0,001$) (Şekil 4.5.). Alt gruplar incelendiğinde, KF grubundaki periodontal sağlıklı bireylerde ELA2 ortalama değeri $0,64 \pm 0,43$ ng olarak ölçülürken, gingivitis bulunan grupta $0,75 \pm 0,56$ ng olarak bulundu ve fark istatistiksel anlamlı bulunmadı ($p=0,628$). Kontrol grubunda ortalama ELA2 total değeri periodontal sağlıklı ve gingivitis bulunan bireyler için sırasıyla $0,27 \pm 0,34$ ve $0,39 \pm 0,36$ ng olarak belirlendi. Kontrol grubundaki bireyler arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0,273$). Periodontal sağlıklı ve gingivitis bulunan bireylerin ortalama ELA2 total değerleri, KF grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek ölçüldü ($p < 0,05$) (Şekil 4.6.).

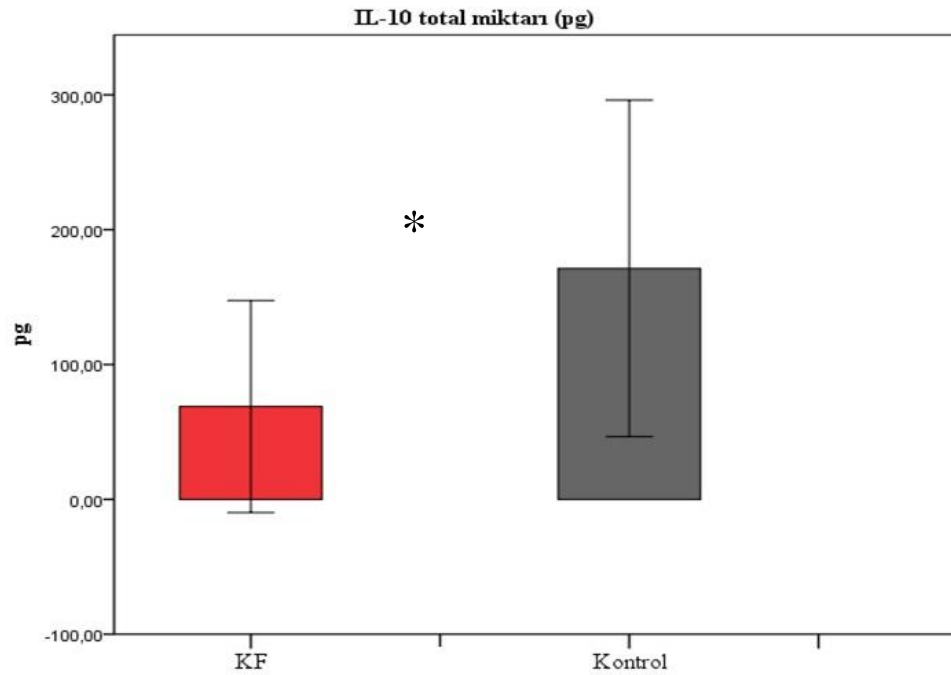


Şekil 4.5. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama ELA2 düzeyleri. *: İşaretili sütunlar arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ($p < 0,05$).

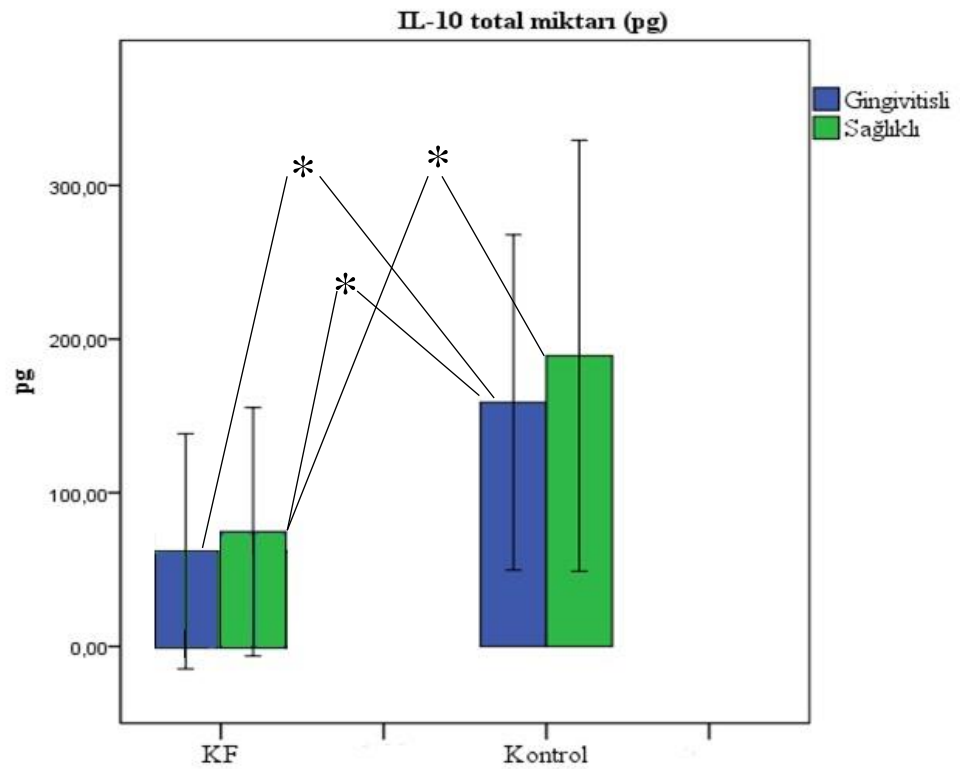


Şekil 4.6. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama ELA2 düzeyleri. *: İşaretili sütunlar arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ($p < 0,05$).

IL-10: IL-10 total değeri KF grubunda ortalama $68,81 \pm 39,31$ pg iken, kontrol grubunda $171,28 \pm 62,41$ pg olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel anlamlı olarak hesaplandı ($p = 0,000$) (Şekil 4.7.). Periodontal durum açısından alt gruplar değerlendirildiğinde, ortalama IL-10 total değerleri KF grubundaki periodontal sağlıklı bireyler için $75,60 \pm 40,42$ pg iken, gingivitisli bireyler için $62,94 \pm 38,27$ pg bulundu. KF grubundaki bireyler arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p = 0,234$). Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde ortalama IL-10 total değeri sırasıyla $189,20 \pm 70,13$ ve $158,81 \pm 54,58$ pg olarak hesaplandı. Fark istatistiksel anlamlı bulunmadı ($p = 0,220$). Periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalama IL-10 total değerleri, KF grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük ölçüldü ($p < 0,05$) (Şekil 4.8). Bunlara ek olarak KF grubundaki periodontal açıdan sağlıklı bireylerin IL-10 düzeyi, kontrol grubundaki gingivitisli hastalardan istatistiksel anlamlı olarak daha düşük ölçüldü ($p < 0,05$).

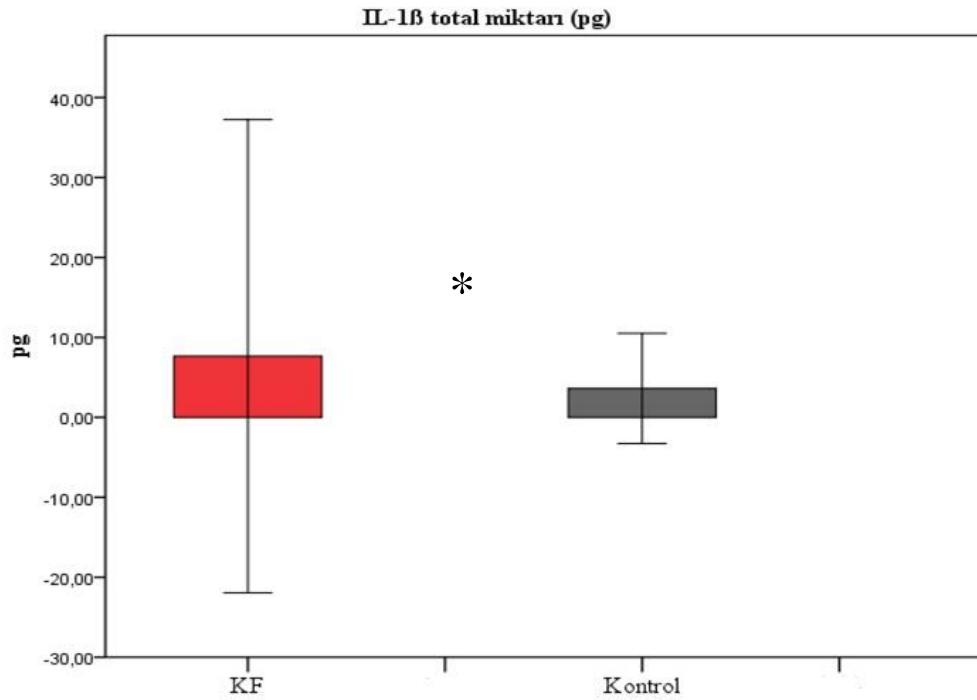


Şekil 4.7. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama IL-10 düzeyleri. *: İşaretili sütunlar arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ($p < 0,05$).

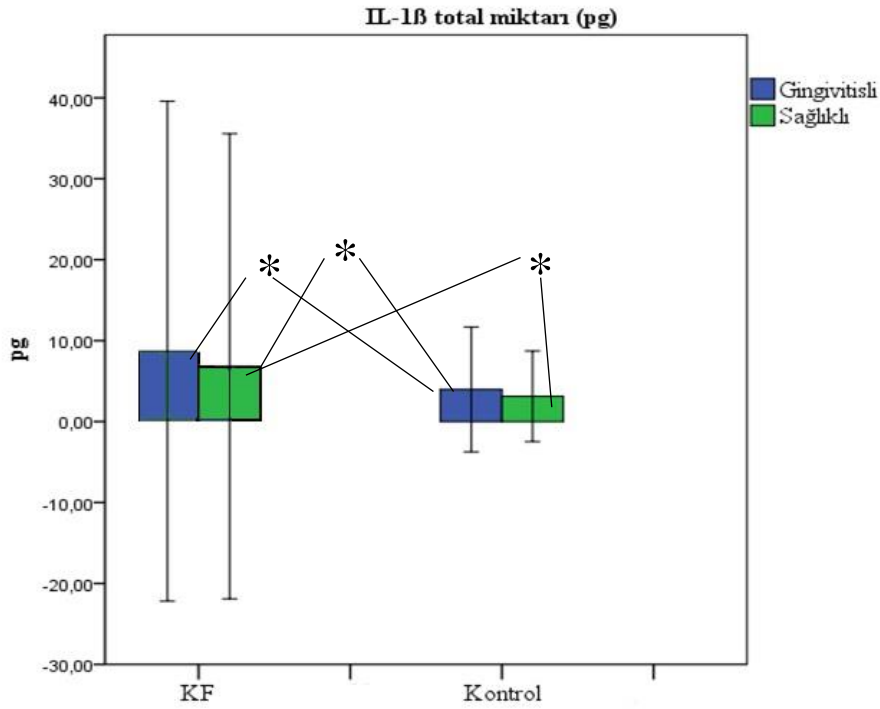


Şekil 4.8. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama IL-10 düzeyleri. *: İşaretili sütunlar arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ($p < 0,05$).

IL-1 β : IL-1 β total değeri KF grubunda $7,66 \pm 14,80$ pg olarak hesaplanırken, kontrol grubunda $3,62 \pm 3,45$ pg olarak belirlendi. Gruplar arasındaki fark istatistiksel anlamlı olarak hesaplandı ($p=0,001$) (Şekil 4.9.). Alt gruplar incelendiğinde, KF grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalamaları sırasıyla $6,67 \pm 14,37$ ve $8,51 \pm 15,45$ pg olarak bulunurken; kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalamaları sırasıyla $3,12 \pm 2,80$ ve $3,97 \pm 3,86$ pg olarak belirlendi. KF grubundaki ($p=0,055$) ve kontrol grubundaki ($p=0,530$) bireyler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. KF grubundaki bütün alt gruplarda ortalama IL-1 β total değeri, kontrol grubundaki bütün alt gruplara göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$) (Şekil 4.10). Ayrıca KF grubundaki periodontal açıdan sağlıklı hastaların IL-1 β düzeyi, kontrol grubundaki gingivitisli hastalardan istatistiksel anlamlı daha yüksek ölçüldü ($p<0,05$).

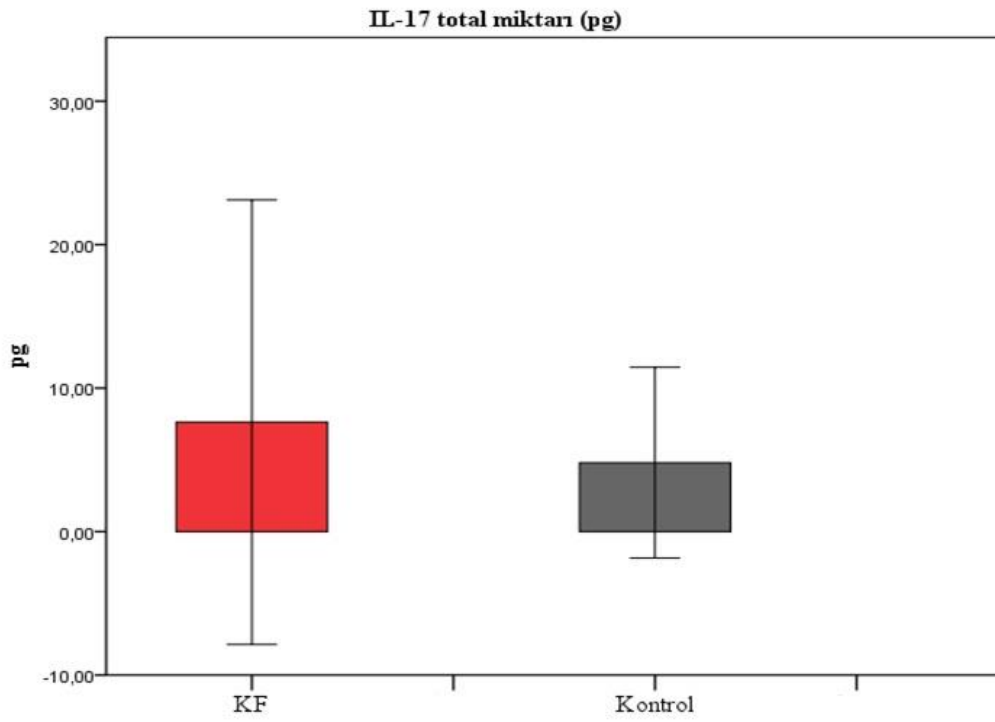


Şekil 4.9. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama IL-1 β düzeyleri. *: İşaretili sütunlar arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ($p<0,05$).

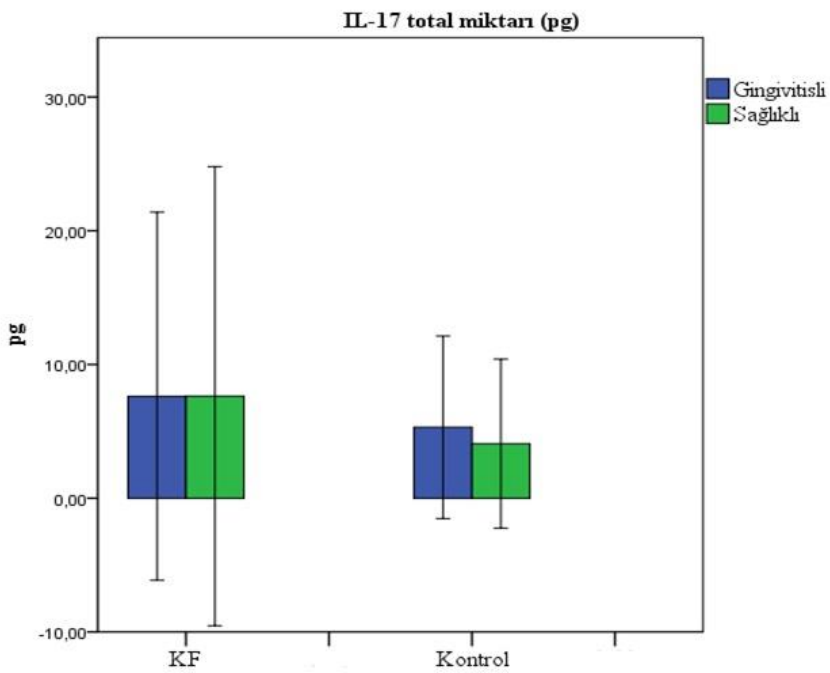


Şekil 4.10. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama IL-1 β düzeyleri. *: İşaretili sütunlar arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ($p < 0,05$).

IL-17: IL-17 total değeri KF grubunda ortalama $7,63 \pm 7,75$ pg olarak bulunurken, kontrol grubunda $4,81 \pm 3,33$ pg hesaplandı. Gruplar arasındaki fark istatistiksel anlamlı olarak bulunmadı ($p = 0,375$) (Şekil 4.11.). Alt gruplar değerlendirildiğinde, KF grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalama IL-17 total değerleri sırasıyla, $7,63 \pm 8,59$ ve $7,63 \pm 6,88$ pg hesaplandı. KF grubundaki bireyler arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p = 0,619$). Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalama IL-17 total değerleri sırasıyla $4,08 \pm 3,16$ ve $5,31 \pm 3,41$ pg olarak bulundu. Kontrol grubundaki bireyler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p = 0,259$). Periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalama IL-17 total değerleri, KF grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek ölçülürken, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 4.12.).

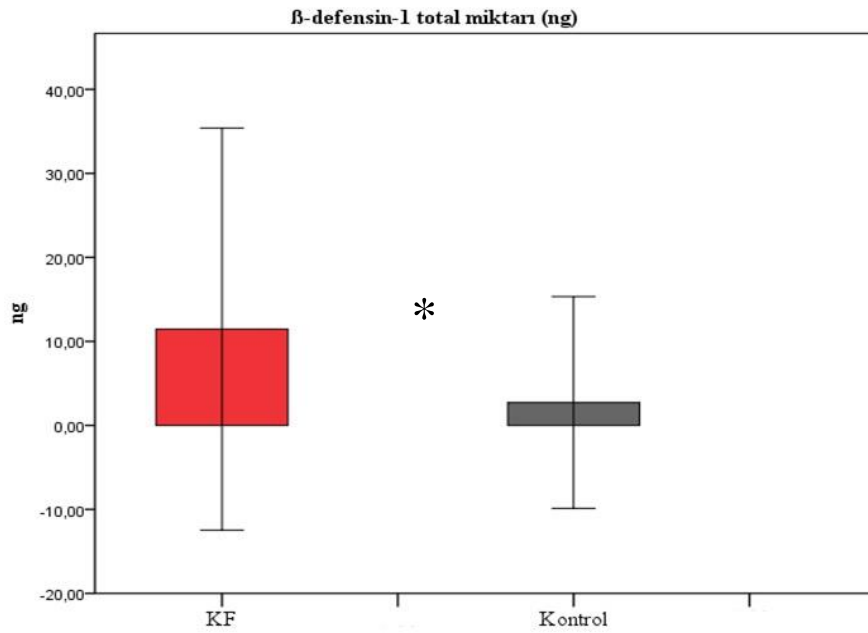


Şekil 4.11. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama IL-17 düzeyleri.

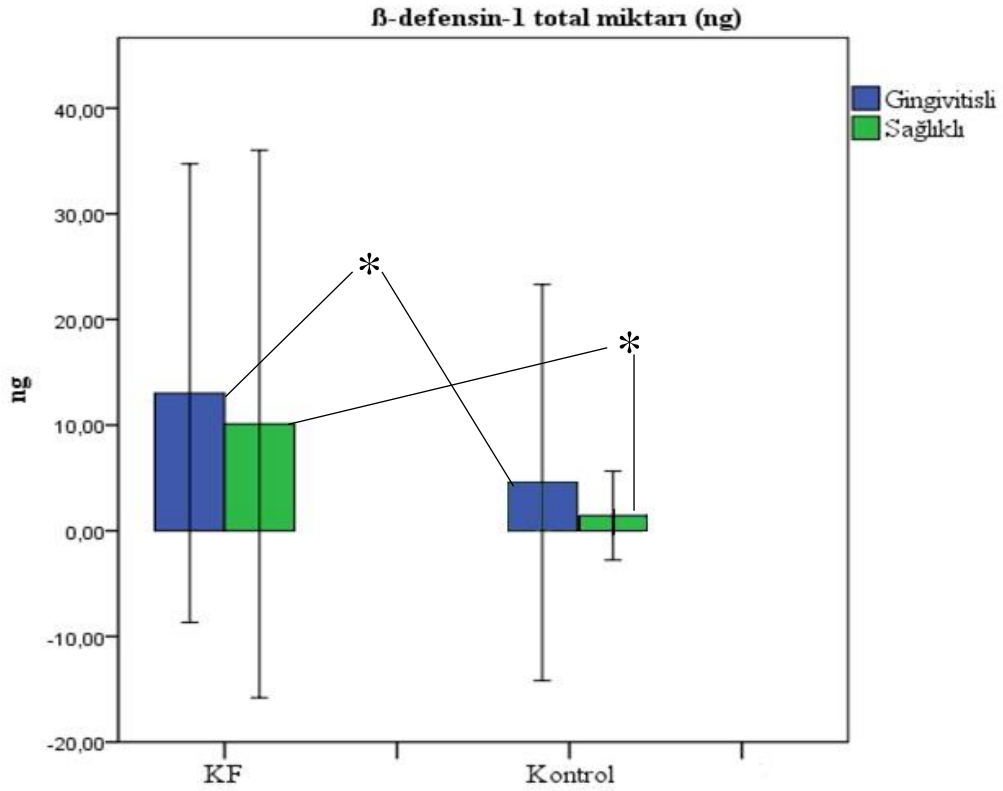


Şekil 4.12. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama IL-17 düzeyleri.

β -defensin-1: β -defensin-1 için ortalama total değerler KF grubunda $11,46 \pm 11,97$ ng ölçülürken, kontrol grubunda $2,72 \pm 6,30$ ng olarak belirlendi. KF grubundaki β -defensin-1 total miktarı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,000$) (Şekil 4.13.). Alt gruplar incelendiğinde, KF grubundaki periodontal sağlıklı bireylerin ortalama β -defensin-1 değeri $10,12 \pm 12,96$ ng ölçülürken, gingivitisli bireylerin ortalaması $13,02 \pm 10,85$ ng bulundu. KF grubundaki bireyler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,094$). Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalamaları ise sırasıyla $1,44 \pm 2,11$ ve $4,57 \pm 9,38$ ng olarak ölçüldü. Kontrol grubundaki bireyler arasındaki fark anlamlı olarak hesaplanmadı ($p=0,447$). Periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalama β -defensin-1 total değeri, KF grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek ölçüldü ($p<0,05$) (Şekil 4.14.).



Şekil 4.13. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin ortalama β -defensin-1 düzeyleri. *: İşaretli sütunlar arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4.14. KF ve Kontrol grubundaki bireylerin periodontal durumlarına göre ortalama β -defensin-1 düzeyleri. *: İşaretli sütunlar arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ($p < 0,05$).

Kistik fibrozisli bireyler ile kontrol grubundaki bireyler arasında IL-17/IL-10 ve IL-1 β /IL-10 oranları hesaplandığında, KF grubu için ortalama değerler sırasıyla $1,22 \pm 6,43$ ve $0,25 \pm 0,80$; kontrol grubu için ise sırasıyla $0,03 \pm 0,03$ ve $0,03 \pm 0,03$ bulundu. Her iki oran da KF grubunda istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olarak tespit edildi ($p < 0,05$).

KFTR, ELA2, β -defensin-1 ve sitokin DOS konsantrasyon değerleri

ELISA ile bakılan bütün parametreler değerlendirildiğinde, irdelenen total değerlerden farklı olarak, yalnızca alt gruplarda IL-1 β ve KFTR konsantrasyonunda değişiklik saptandı.

IL-1 β konsantrasyon değerleri incelendiğinde, KF'li gingivitis alt grubu ile kontrol grubundaki gingivitis alt grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).

Ayrıca, KF'li gingivitisli hastaların IL-1 β konsantrasyon değeri, KF'li periodontal sağlıklılarına göre önemli derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).

KFTR konsantrasyon düzeyleri değerlendirildiğinde, KF'li gingivitis alt grubu ile kontrol grubundaki gingivitis alt grubu arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0,05$). KF'li alt gruplarda, gingivitisli grubun KFTR konsantrasyon değeri periodontal sağlıklı grubun KFTR değerinden anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).

Sitokinlerin konsantrasyon değerleri hesaplandığında; KF grubu için KFTR, ELA2, IL-10, IL-17, β -defensin-1 ve IL-1 β ortalama konsantrasyon değerleri sırasıyla $0,23\pm0,05$ ng/ml, $0,21\pm0,16$ ng/ml, $20,06\pm11,82$ pg/ml, $2,19\pm2,30$ pg/ml, $3,28\pm3,57$ ng/ml ve $2,19\pm4,24$ pg/ml olarak hesaplandı. Kontrol grubu için ortalama konsantrasyon değerleri KFTR, ELA2, IL-10, IL-17, β -defensin-1 ve IL-1 β için sırasıyla $0,22\pm0,07$ ng/ml, $0,10\pm0,10$ ng/ml, $51,60\pm20,46$ pg/ml, $1,47\pm1,04$ pg/ml, $0,81\pm1,73$ ng/ml ve $1,12\pm1,12$ pg/ml olarak ölçüldü. KFTR ve IL-17 konsantrasyon değerleri için gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p>0,05$), ELA2, IL-10, β -defensin-1 ve IL-1 β konsantrasyon değerleri için gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

KFTR konsantrasyon değeri KF grubundaki periodontal sağlıklı bireyler için $0,23\pm0,05$, gingivitisli bireyler için $0,26\pm0,05$ ng/ml olarak hesaplandı. Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerin ortalamaları sırasıyla $0,20\pm0,05$ ve $0,22\pm0,08$ ng/ml olarak belirlendi. KF grubundaki bireyler arasındaki fark anlamlı bulunurken ($p=0,004$); kontrol grubundaki bireyler arasındaki fark istatistiksel anlamlı olarak hesaplanmadı ($p=0,668$). Gingivitisli bireylerin ortalama KFTR konsantrasyon değeri, KF grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek ölçüldü ($p<0,05$).

ELA2 konsantrasyon değeri KF grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde sırasıyla $0,18\pm0,13$ ve $0,24\pm0,18$ ng/ml olarak ölçülürken, kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde ise ortalama $0,08\pm0,09$ ve $0,12\pm0,11$ ng/ml olarak hesaplandı. KF grubundaki ($p=0,313$) ve

kontrol grubundaki ($p=0,248$) bireyler arasında periodontal durumun ELA2 konsantrasyonuna etkisi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Periodontal sağlıklı hastaların ortalama ELA2 konsantrasyon değeri, KF grubunda istatistiksel anlamlı olarak daha fazla ölçüldü ($p=0,003$). Gingivitisli bireylerde KF grubunda, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,091$).

KF grubundaki ortalama IL-10 konsantrasyon değeri periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde $20,60\pm 11,15$ ve $19,59\pm 12,62$ pg/ml olarak hesaplanırken, kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli gruplarda sırasıyla $56,94\pm 24,82$ ve $47,89\pm 16,37$ pg/ml olarak bulundu. Her iki grupta da periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Hem gingivitisli hem periodontal sağlıklı bireylerde, KF grubundaki ortalama IL-10 değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha az ölçüldü ($p<0,05$).

IL-17 konsantrasyon değeri KF grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bulunan bireylerde $2,03\pm 1,84$ ve $2,32\pm 2,67$ pg/ml olarak ölçülürken, kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde sırasıyla $1,20\pm 0,94$ ve $1,65\pm 1,09$ pg/ml olarak belirlendi. Her iki grupta da periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Hem periodontal sağlıklı hem de gingivitisli bireylerdeki ortalama IL-17 konsantrasyon değeri, KF grubunda daha fazla ölçülmesine rağmen, istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenemedi ($p>0,05$).

KF grubundaki ortalama β -defensin-1 konsantrasyon değerleri periodontal sağlıklı bireylerde $2,97\pm 3,82$ ng/ml iken, gingivitisli bireylerde ise $3,63\pm 3,32$ ng/ml olarak ölçüldü. Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde ise sırasıyla $0,45\pm 0,63$ ve $1,33\pm 2,55$ ng/ml olarak tespit edildi. Her iki grupta da periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Hem periodontal sağlıklı hem de gingivitisli bireylerin ortalama β -defensin-1 konsantrasyon değerleri, KF grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek hesaplandı ($p<0,05$).

IL-1 β ortalama konsantrasyon değerleri KF grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde 1,61 \pm 2,87 ve 2,70 \pm 5,17 pg/ml olarak belirlendi. KF grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireyler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,043). Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bireylerde ise 0,95 \pm 0,94 ve 1,23 \pm 1,23 pg/ml olarak hesaplandı. Kontrol grubundaki periodontal sağlıklı ve gingivitisli bulunan bireyler arasındaki fark anlamlı bulunmadı (p=0,493). Periodontal sağlıklı bireylerin ortalama IL-1 β konsantrasyon değerleri, KF grubunda istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek ölçüldü (p=0,007). Gingivitisli bireylerin ortalama IL-1 β konsantrasyon değerleri KF grubunda daha yüksek hesaplanmasına rağmen; istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (p=0,791).

Korelasyonlar

Çalışmamızda elde edilen klinik indeksler ile sitokin düzeyleri arasında ve bu verilerin kendi içinde korelasyonları incelendi. Buna göre;

KF Grubunda: DOS hacmi ile Pİ, Gİ ve sondlamada kanama değerleri arasında pozitif korelasyon saptandı (sırasıyla r=0,415 p=0,007, r=0,470 p=0,002, r=0,470 p=0,002). Yaş ile Pİ, Gİ, sondlamada kanama ve cep derinliği verileri arasında pozitif korelasyon tespit edildi (sırasıyla r=0,468 p=0,002, r=0,453 p=0,003, r=0,485 p=0,001, r=0,485 p=0,001). β -defensin-1 total değeri ile Gİ arasında pozitif korelasyon gözlemlendi (r=0,346 p=0,027). Pİ ile Gİ, sondlamada kanama ve cep derinliği arasında pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla r=0,828 p=0,000, r=0,653 p=0,000, r=0,418 p=0,006). Gİ ile sondlamada kanama arasında pozitif korelasyon tespit edildi (r=0,845 p=0,000). Cep derinliği ile Gİ (r=0,433 p=0,005) ve sondlamada kanama (r=0,405 p=0,009) arasında pozitif korelasyon gözlemlendi.

Konrol Grubunda: Yaş ile cep derinliği arasında pozitif korelasyon bulundu (r=0,358 p=0,025). Pİ ile Gİ, cep derinliği ve sondlamada kanama arasında pozitif korelasyon tespit edildi (sırasıyla r=0,728 p=0,000, r=0,552 p=0,000, r=0,776 p=0,000). Gİ ile sondlamada kanama arasında pozitif korelasyon gözlemlendi (r=0,905 p=0,000). Cep derinliği ile Gİ, sondlamada kanama, IL-17 total değeri ve IL-17

konsantrasyon değerleri arasında pozitif korelasyon saptandı (sırasıyla $r=0,628$ $p=0,000$, $r=0,554$ $p=0,000$, $r=0,383$ $p=0,016$, $r=0,391$ $p=0,014$).

Tablo 4.3. Hastaların DOS hacmi ve sitokin düzeyleri ortalama değerleri. *: Gruplar arası fark istatistiksel anlamlı (p<0,05).

	KF GRUBU (n=41)	KONTROL GRUBU (n=39)	İSTATİSTİKSEL FARK
	ORTALAMA±STD. SAPMA	ORTALAMA±STD. SAPMA	P DEğERİ
DOS HACMİ (ml)	3,49±0,60	3,39±0,49	0,512
IL-17 TOT. DEğ. (pg/30 sn)	7,63±7,75	4,81±3,33	0,375
IL-17 KONS. (pg/ml)	2,19±2,30	1,47±1,04	0,402
IL-1β TOT. DEğ. (pg/30 sn)	7,66±14,80	3,62±3,45	0,001*
IL-1β KONS. (pg/ml)	2,19±4,24	1,12±1,12	0,001*
KFTR TOT. DEğ. (ng/30 sn)	0,79±0,16	0,74±0,23	0,590
KFTR KONS. (ng/ml)	0,23±0,05	0,22±0,07	0,996
ELA2 TOT. DEğ. (ng/30 sn)	0,70±0,50	0,34±0,35	0,001*
ELA2 KONS. (ng/ml)	0,21±0,16	0,10±0,10	0,001*
IL-10 TOT. DEğ. (pg/30 sn)	68,81±39,31	171,28±62,41	0,001*
IL-10 KONS. (pg/ml)	20,06±11,82	51,60±20,46	0,000*
β-DEFENSİN-1 TOT. DEğ. (ng/30 sn)	11,46±11,97	2,72±6,30	0,000*
β-DEFENSİN-1 KONS. (ng/ml)	3,28±3,57	0,81±1,73	0,000*

Tablo 4.4. Hastaların alt gruplara göre DOS hacmi ve sitokin düzeyleri ortalamaları. *: KF veya kontrol grubundaki gingivitis ve periodontal sağlıklı alt gruplar arası fark istatistiksel anlamlı ($p<0,05$). #: Gingivitisli ve periodontal sağlıklı hastaların KF veya kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel anlamlı ($p<0,05$).

	KF GRUBU (n=41)		KONTROL GRUBU (n=39)	
	GİNGİVİTİSLİ (n=19)	PERİODONTAL SAĞLIKLI (n=22)	GİNGİVİTİSLİ (n=23)	PERİODONTAL SAĞLIKLI (n=16)
	ORTALAMA±STD. SAPMA	ORTALAMA±STD. SAPMA	ORTALAMA±STD. SAPMA	ORTALAMA±STD. SAPMA
DOS HACMİ (ml)	3,74±0,56* [#]	3,27±0,55	3,44±0,51	3,35±0,49
IL-17 TOT. DEĞ. (pg/30 sn)	7,63±6,88	7,63±8,58	5,31±3,41	4,08±3,16
IL-17 KONS. (pg/ml)	2,32±2,67	2,03±1,84	1,65±1,09	1,20±0,94
IL-1β TOT. DEĞ. (pg/30 sn)	8,51±15,45 [#]	6,67±14,37 [#]	3,97±3,86	3,12±2,80
IL-1β KONS. (pg/ml)	2,70±5,17*	1,61±2,87 [#]	1,23±1,23	0,95±0,94
KFTR TOT. DEĞ. (ng/30 sn)	0,82±0,14	0,76±0,18	0,76±0,16	0,72±0,26
KFTR KONS. (ng/ml)	0,26±0,05* [#]	0,23±0,05	0,22±0,08	0,20±0,05
ELA2 TOT. DEĞ. (ng/30 sn)	0,75±0,56 [#]	0,64±0,43 [#]	0,39±0,36	0,27±0,34
ELA2 KONS. (ng/ml)	0,24±0,18	0,18±0,13 [#]	0,12±0,11	0,08±0,09
IL-10 TOT. DEĞ. (pg/30 sn)	62,94±38,27 [#]	75,60±40,42 [#]	158,81±54,58	189,20±70,13
IL-10 KONS. (pg/ml)	19,59±12,62 [#]	20,60±11,15 [#]	47,89±16,37	56,94±24,82
β-DEFENSİN-1 TOT. DEĞ. (ng/30 sn)	13,02±10,85 [#]	10,12±12,96 [#]	4,57±9,38	1,44±2,11
β-DEFENSİN-1 KONS. (ng/ml)	3,63±3,32 [#]	2,97±3,82 [#]	1,33±2,55	0,45±0,63

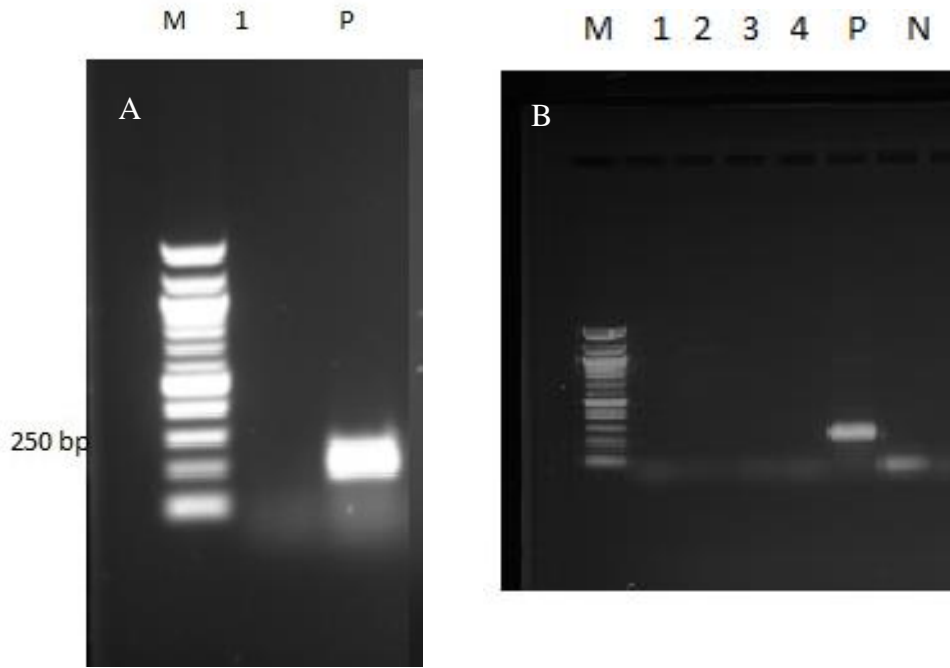
4.2. Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

KF'li hasta grubunda toplam 18, kontrol grubunda toplam 15 klinik örnek mikrobiyolojik açıdan çalışıldı. Plak örneklerinde kanlı agar, EMB agar ve MHB agar besiyerlerinde *P. aeruginosa* kolonizasyonu incelendi ve PCR ile *P. aeruginosa* tespiti yapıldı.

KF hasta grubunun hepsinde kanlı agarda normal floraya ait mikroorganizmalar üredi. EMB besiyerinde doğrudan ekim sonucu 4 hastada gram negatif basil görüldü. Bu izolatlar MALDI-TOF (Biomerieux, Fransa) yöntemi ile *P. aeruginosa* olarak tanımlandı. KF hasta grubu örneklerinin MHB sıvı besiyerine ekimi sonrasında üreme olan örneklerden yapılan pasajlarda EMB besiyerinde yine aynı hastalarda üreme izlendi. Bu izolatlar MALDI-TOF (Biomerieux, Fransa) yöntemi ile *P. aeruginosa* olarak tanımlandı.

Kontrol grubundan alınan örneklerde kanlı agarda normal floraya ait mikroorganizmalar üredi. Örneklerden doğrudan EMB besiyerine yapılan ekimlerde üreme olmadı. MHB sıvı besiyerinde üreme görülen örneklerden EMB besiyerine yapılan pasajlarda 3 örnekte üreme görüldü. Bunlar MALDI-TOF (Biomerieux, Fransa) yöntemi ile *Ralstonia pickettii* olarak tanımlandı ve üremeler kontaminasyon olarak değerlendirildi.

Kaynatma yöntemi ve Laine yöntemi ile gerçekleştirilen DNA izolasyonu sonucunda hasta grubunda ve kontrol grubunda yer alan örnekler PCR yöntemi ile *P. aeruginosa* açısından negatif bulundu (Şekil 4.15.).



Şekil 4.15. Klinik örneklerin farklı iki izolasyon yöntemi ile çalışılan polimeraz zincir reaksiyonu. A. Kaynatma yöntemi; M: moleküler ağırlık belirteci; 1: Kültür pozitif hasta örneği; P: Pozitif kontrol B. Laine yöntemi; M: moleküler ağırlık belirteci; 1-4: Kültür pozitif hasta örnekleri; P: Pozitif kontrol; N: Negatif kontrol.

5. TARTIŞMA

KF, otozomal resesif geçiş gösteren, birçok organı da etkileyebilen, progresif akciğer enfeksiyonu ile karakterize sistemik bir hastalıktır. KF genindeki mutasyon sonucunda, anormal KFTR'ler oluşur. Anormal KFTR proteini, hem klor geçişinin etkilenmesine neden olmakta, hem de sodyum, bikarbonat ve suyun hücre dışına çıkışını sekonder olarak azaltmaktadır (1, 3, 5). KF hastalarındaki akciğer hasarına sebep olan artmış enflamasyon durumunun, immün sistem hücrelerindeki anormal KFTR nedeniyle olduğu öne sürülmektedir (14). Bu etkilerin bulunmasının ardından, sadece bir klorit kanalı olan KFTR'nin hastalığın patogenezi oluşturulan olaylara nasıl etki ettiği araştırılmıştır. KFTR'lerin β -adrenerjik reseptörler (44), fosfodiesterazlar (45) ve diğer iyon kanalları (46, 47) ile ilişkileri bulunduğu saptanmıştır. KF'li hastalardaki KFTR mutasyonu sonucunda, sadece nötrofillerde interlökin reseptörleri, kemokinler, koloni stimüle edici faktörler ve hücre içi sinyal molekülleri ile ilgili yaklaşık 89 genin etkilendiği rapor edilmiştir (133). Bunun yanı sıra, bronşiyal epitel hücrelerindeki anormal KFTR nedeniyle, *P. aeruginosa* ile uyarılan epitel hücrelerinin normalden daha fazla düzeyde IL-8 sentezlediği bildirilmiştir (134, 135). KF'li hastalarda sistemik durumları stabil bile olsa, başlıca kemoatraktan moleköl olan IL-8'in bu hastaların serum ve bronkoalveolar lavaj sıvısındaki miktarlarının sağlıklı hastalara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (15, 16).

Çalışmamıza 41 KF hastası ve 39 sistemik sağlıklı birey dahil edildi. Bireyler arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Yine, KF ve kontrol grupları periodontal sağlıklı ve gingivitisli olarak alt gruplara ayrıldığında, alt gruplarda da yaş ve cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Bu veriler sonucunda, yaş ve cinsiyetin bulgulara önemli bir etki yapmadığı anlaşıldı.

Klinik indeksler değerlendirildiğinde, ortalama cep derinliği, Gİ, Pİ ve sondlamada kanama yüzdeleri açısından KF ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Ancak, cep derinliği ve Pİ değerleri

kontrol grubunda daha yüksek iken; Gİ ve sondlamada kanama yüzdelerinin KF grubunda yüksek bulunması, hastalığın baskın olan sistemik pro-enflamatuvar özelliğine bağlanabilir.

KF'li hastaların alt grupları klinik bulgular açısından değerlendirildiğinde, cep derinliği, Gİ, Pİ ve sondlamada kanama yüzdeleri KF'li gingivitisli gruplarda, KF'li periodontal sağlıklı gruplara göre önemli derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). Kontrol grubunda, yine gingivitisli ve periodontal açıdan sağlıklı grup arasında klinik indeksler açısından önemli farklar bulundu ($p<0,05$). Çalışmamızda KF gingivitisli alt grubunda, kontrol grubunun gingivitisli alt grubuna kıyasla Gİ önemli olmasa da yüksek olarak saptandı ($p>0,05$). Yine alt gruplar incelendiğinde, sondlamada kanama yüzdesi KF'li gingivitis hastalarında, kontrol grubundaki gingivitisli bireylere göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). KF'li gingivitis hastalarının sondlamada kanama yüzdelerinin, kontrol grubundaki gingivitisli hastalara kıyasla önemli derecede yüksek bulunması ($p<0,05$) ve KF'li periodontal sağlıklı olan bireylerin Gİ değerlerinin kontrol grubundaki periodontal sağlıklı bireylere kıyasla istatistiksel anlamlı olarak yüksek olması ($p<0,05$) hastalıkta gözlenen artmış sistemik pro-enflamatuvar yanıtın, dişetindeki lokal immün yanıtı da artırabileceğini düşündürmektedir.

Tüm KF'li hastaların total DOS hacmi miktarları değerlendirildiğinde, KF hastaları ile sağlıklı bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Alt grup değerlendirildiğinde, KF gingivitisli bireylerin DOS hacmi, KF periodontal sağlıklı olanlardan istatistiksel anlamlı olarak fazla ölçüldü ($p<0,05$). Literatürde KF'li hastaların DOS örnekleriyle ilgili bir çalışma bulunmadığından, elde edilen bulgular tartışılmamıştır.

ELISA yöntemi ile DOS KFTR proteini düzeyleri değerlendirildiğinde, KF'li hastalarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Çalışmamızın planlaması sırasında yapılan literatür taramasında da, KF'li hastalarda DOS KFTR düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmaya da rastlanılmamıştır. Ancak, Ajonuma ve ark.'nın (35) dişeti dokusunda yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada, periodontal sağlıklı bireylerin biyopsi örneklerinde epitelin sadece spinöz

ve granüler tabakalarında KFTR proteini gözlenirken; periodontitisli hastaların biyopsi örneklerinde bütün epitel tabakalarında ve bağ dokusunda KFTR proteinine rastlamışlardır. Araştırmacılar dişeti epitelinde gözlenen KFTR'nin, transepitelyal sıvının geçişinde rol oynadığını ve bu yolla doku hemostazisinin devamlılığında etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir (35). KF'li hastalarda yapılan iki çalışmada, KFTR proteinindeki anormalliğe bağlı olarak, *P. aeruginosa* (136) ve *Salmonella typhi*'nin (137) epitele adezyonunun daha kolaylaştığı ileri sürülmüştür. Ajonuma ve ark. (35) bu çalışmalardan elde edilen sonuçları, periodontal enfeksiyonlarda da dişeti dokularındaki artmış KFTR'nin periodontopatojenlerin adezyonunu kolaylaştıran bir faktör olabileceği şeklinde yorumlamışlardır. Bu sonuçlara göre, periodontal enfeksiyonlarda, KF varlığında ve yokluğunda, DOS KFTR düzeylerinin ve epitel içerisindeki KFTR ekspresyonlarının araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda ELA2 miktarları değerlendirildiğinde, hem üst grupta hem de periodontal sağlıklı ve gingivitisli alt gruplar kıyaslandığında, KF'li bireylerde ELA2 miktarı kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Sonuç olarak, araştırmamızda KF'li gruplarda, periodontal dokular ister sağlıklı olsun ister gingivitisli olsun, ELA2 düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Yapılan çalışmalarda, KF ile gözlenen artmış IL-8 ve TNF- α etkisiyle DOS'taki ELA2 miktarının arttığı yorumu yapılmaktadır (138). Literatürde ayrıca, KF'li hastaların sistemik durumları stabil bile olsa, serum ve bronkoalveolar lavaj sıvısındaki IL-8 seviyelerinin sistemik sağlıklı gruplara göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu belirtilmiştir (15, 16). Bunun sonucunda, güçlü bir kemoatraktan olan IL-8 etkisiyle nötrofillerin kemotaksis ve aktivasyonunun arttığı; IL-1 β ekspresyonunun arttığı rapor edilmiştir (139, 140). Çalışmamızın bulgularında da IL-1 β seviyesi KF'li bireylerde kontrol grubuna göre tüm gruplarda istatistiksel anlamlı olarak fazla bulundu ($p<0,05$). Bunun yanında, KF'li gruptaki periodontal sağlıklı bireylerin ELA2 ve IL-1 β ortalamaları, kontrol grubundaki gingivitisli bireylerin ortalamalarından daha fazla olarak belirlendi ($p<0,05$). Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, KF'li bireylerde IL-1 β düzeylerinin yükselmesinin, KF'li hastalarda PMNL'lerin damar dışına çıkıp dokuya ilerlemelerinde önemli bir etken olduğu düşünülmektedir. Fazla nötrofil akımı da, ELA2 düzeylerinin DOS'taki

artışını açıklar. Bu da KF'li hastalarda periodontal dokularda enflamasyon olmasa da, bu hastalardaki artmış sistemik pro-enflamatuvar yanıtın lokal olarak da gözlenebileceğini göstermektedir.

KF'li hastalarda anti-enflamatuvar yanıt incelendiğinde, bu hastaların bronşiyal epitel hücrelerinden anti-enflamatuvar bir sitokin olan IL-10 ekspresyonunun, sağlıklı bireylere göre önemli derecede daha az olduğu bildirilmiştir (141). Literatüre paralel olarak çalışmamızın bulgularında, KF grubundaki DOS IL-10 seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,05$). Periodontal patogenez ile ilgili yapılan çalışmalarda, periodontal hastalık durumunda pro-enflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , TNF- α , PGE₂ v.b.) miktarının arttığı, IL-4 ve IL-10 gibi anti-enflamatuvar sitokinlerinin ise sentezinin azaldığı rapor edilmiştir. Bu veriler ile birlikte, periodontal hastalıkta immünolojik dengenin pro-enflamatuvar sitokinler lehine bozulduğu bildirilmiştir (28, 31, 142). Çalışmamızda, DOS IL-10 düzeyleri tüm KF'li hastalarda, sağlıklı bireylere göre önemli derecede düşük bulundu ($p < 0,05$). Yine, KF'li gingivitisli bireylerde, sağlıklı gingivitisli bireylere göre DOS IL-10 düzeyi önemli derecede düşük bulundu ($p < 0,05$). Bunlara ek olarak, KF'li periodontal sağlıklı bireylerin DOS IL-10 düzeyleri, kontrol grubundaki gingivitisli bireylere göre önemli derecede düşük olduğu saptandı ($p < 0,05$). Çalışmamızın sonuçlarına göre, KF'li hastalarda DOS IL-10 düzeyi hastaların periodontal durumlarından bağımsız olarak önemli derecede düşük bulundu. Bu sonuç, KF'li hastalarda periodontal enflamasyonun sınırlandırılmasının zayıf olduğu görüşünü önümüze getirmektedir. Soltys ve ark. (143) yaptıkları çalışmada, KF'deki lokal immünregülasyon bozukluğunu, yetersiz IL-10 düzeyine bağlamışlardır. Yazarlara göre, bronş epiteli lokal immün yanıtın oluşmasında çok önemli bir rol oynadığı ve lokal immün yanıtın regülasyonunun esas mediyatörünün IL-10 olduğunu ileri sürmüşlerdir ve sonuç olarak da, IL-10'un KF'nin gelecekteki sistemik tedavi yaklaşımlarında göz önünde bulundurulması gereken bir sitokin olduğunu vurgulamışlardır.

KF'li bireylerde Th hücreleri incelendiğinde, Th17 yüzdesi bronkoalveolar lavaj sıvısı ve periferal kanda kontrol grubuna göre daha yüksek olarak gözlenmiştir (17-19). Th17 hücrelerinin ve epitelyal hücrelerin aktivasyonu sonucunda, IL-17

ekspresyonunun arttığı; IL-17 etkisiyle de IL-1 β , IL-6 ve IL-8 gibi sitokin ve kemokinlerin ekspresyonunun gözleendiği birçok çalışmada kanıtlanmıştır (20-22). KF hastalığının immünopatolojisini inceleyen çalışmalar sonucunda, KF'nin Th2 ve Th17 predominant bir hastalık olduğu öne sürülmüştür (18, 144, 145). Buna karşılık Th1 seviyesinde kontrol grubu ile KF grubu arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir (146). Çalışmamızın bulguları da daha önce yapılan çalışmaları destekler nitelikte bulundu. Çalışmamızın sonucunda, KF hastalarındaki IL-17 seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek ölçüldü. Ayrıca, KF'li gruptaki periodontal sağlıklı bireylerin ortalaması, kontrol grubundaki gingivitisli bireylerin ortalamasından daha fazla olarak tespit edildi ($p>0,05$).

Romatoid artrit, tip 1 diyabet ve multiple sklerozis Th1 hücrelerin aktive olduğu hastalıklar iken; alerji ve astım Th2 hücrelerin etkin olduğu hastalıklardır (119). Periodontal dokularda yapılan çalışmalarda ise Th1/Th2 dengesinin, periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (120). Periodontitisli hastalarda Th1 hücrelerden sentezlenen sitokinler sıklıkla daha fazla tespit edilirken; Th2 hücrelerinden sentezlenen sitokinler daha az miktarda ölçülmüştür (121). Bir başka çalışmada periodontitisli hastaların Th profili incelendiğinde, hastalarda sağlıklı bireylere göre istatistiksel anlamlı olarak Th1 ve Th17 hücrelerinin daha fazla olduğu belirtilmiştir (122). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, Th1/Th2 dengesinin Th1 lehine dönüşmesinin gingivitisten periodontitise geçişi hızlandırdığı, Th2 lehine dönüşmesinin ise gingivitis lezyonunun periodontitise geçişini durdurduğu sonucuna varılmıştır (123). Bunun yanında periodontal hastalığın Th1 ve Th17 baskın bir hastalık olabileceği yorumları yapılmıştır (122).

Çalışmamızda, KF grubundaki hastaların IL-17/IL-10 ve IL-1 β /IL-10 oranları, kontrol grubundaki bireylerin oranlarından istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek hesaplandı ($p<0,05$). Ayrıca KF grubundaki periodontal sağlıklı hastaların IL-1 β miktarı, kontrol grubundaki gingivitisli bireylerden istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek ölçülürken; IL-10 miktarları ise istatistiksel anlamlı olarak daha düşük seviyede belirlendi ($p<0,05$). Bu sonuçlar neticesinde, KF'li bireylerde, periodontal açıdan sağlıklı bile olsalar, kontrol grubundaki gingivitisli olan bireylere kıyasla

yüksek IL-1 β , düşük IL-10 düzeyi gösterdiği belirlenmiştir. Buna göre, KF hastalığının periodontal durumdan bağımsız ve lokal olarak güçlü pro-enflamatuvar, zayıf anti-enflamatuvar bir tablo oluşturduğu anlaşılmaktadır.

KF'li hastalarda, solunum mukozasının koruyucu bir mediyatörü olan β -defensin-1'in fonksiyonunun, ortamın iyon ve tuz değişiminden dolayı azaldığı belirtilmiştir. β -defensin-1 fonksiyonunun bozulması sonucunda, mikroorganizmaların solunum epiteline daha kolay tutunduğu rapor edilmiştir (11-13). Literatür incelendiğinde, KF hastalarında periodontal durum ve DOS'ta β -defensin-1 düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. KF'li hastalarda bronkoalveolar sıvıda yapılan bir çalışmada, sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir (147). Çalışmamızın bulgularına göre, DOS'taki β -defensin-1 seviyesi tüm KF'li hasta gruplarında kontrol grubuna göre, periodontal durum dikkate alınmaksızın, istatistiksel açıdan anlamlı ve daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

KF hastalığında en sık rastlanan pulmoner patojen *P. aeruginosa*'dır. KF'li hastalarda mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir. Tedavileri sürecinde uzun süreli ve tekrarlayan antibiyotik kullanımı, bu mikroorganizmanın mutasyona uğrayarak antibiyotiklere dirençli hale gelmesine sebep olmaktadır (148, 149). Ayrıca literatürde, *P. aeruginosa*'nın mukoid bir biyofilm formasyonu oluşturarak antibiyotik ve doğal immün yanıtla karşı dirençli olduğundan bahsedilmiştir (150). Periodontal hastalıkların solunum sistemi enfeksiyonlarını; oral patojenlerin aspirasyonu, periodontal dokularda oluşan sitokin ve enzimlerin solunum yolu mukozasını modifiye ederek patojenlerin adezyon ve kolonizasyonunu kolaylaştırmasıyla enfeksiyon lehine etkilediği rapor edilmiştir (37). Bunun dışında periodontopatojen olan *P. gingivalis*'in, KF hastalarında tekrarlayan akciğer enfeksiyonunun en sık etkeni olan *P. aureginosa* ile ko-enfeksiyon özelliği gösterdiği bilgisi sunulmuştur (36). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda, oral plak örnekleri elde edilerek kültüre edilerek, PCR ile *P. aeruginosa* araştırıldı.

KF grubundan *P. aeruginosa* kolonizasyon hikayesi olan 18 hastanın klinik örnekleri incelenirken, kontrol grubundan 15 klinik örnek mikrobiyolojik açıdan

araştırıldı. Çalışmamızda mikrobiyolojik incelemelerin sonucunda, bütün örneklerde kanlı agarda normal floraya ait mikroorganizmaların ürediği gözlemlendi. KF grubundaki hastaların 4'ünde EMB ve MHB besiyerinde ekim sonucu yapılan pasajlarda 4 hastada gram negatif basil görüldü. Bu üremeler besiyerlerinde 100 cfu/ml şeklinde izlendi. Bu izolatlar MALDI-TOF (Biomerieux, Fransa) yöntemi ile *P. aeruginosa* olarak tanımlandı. Kontrol grubundaki klinik örneklerin EMB ve MHB besiyerlerine ekimi sonucunda 3 örnekte üreme görüldü. Bunlar MALDI-TOF (Biomerieux, Fransa) yöntemi ile *Ralstonia pickettii* olarak tanımlandı ve üremeler kontaminasyon olarak değerlendirildi.

Kaynatma yöntemi ve Laine yöntemi ile gerçekleştirilen iki farklı DNA izolasyonu sonucunda hasta grubunda ve kontrol grubunda yer alan örnekler PCR yöntemi ile *P. aeruginosa* açısından negatif bulundu. KF grubunda besiyerlerinde *P. aeruginosa* üremesi gözlenirken, PCR ile negatif sonuç elde edilmesi, besiyerlerinde sadece birkaç kolonide üreme görülmesine bağlandı. Besiyerlerinde üremenin kantitatif olarak düşük olması, PCR incelemesi sırasında kullanılan klinik örnekte yer alan kalıp DNA miktarının düşük düzeyde kalmış olması, *P. aeruginosa* geninin çoğaltılması için yeterli eşik değere ulaşmadığı ve bu nedenle PCR sonucunun yanlış negatif olarak bulunduğu şeklinde yorumlanmıştır. Buna karşılık, yalnız KF grubundaki örneklerde *P. aeruginosa* üremesinin gözlenmesi, kontrol grubunda üreme saptanmaması, daha önceden yapılan kronik akciğer hastalığına dişeti hastalıklarının etkisini inceleyen çalışmalara paralel olarak, KF hastalığı için diş plağının rezervuar görevi yapabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda incelenen parametreler bütün olarak değerlendirildiğinde, kistik fibrozis hastalığının “plak ve gingivitisden bağımsız olarak”, lokal immün yanıtı etkileyebildiği, hastalarda gözlenen artmış pro-enflamatuvar ve azalmış anti-enflamatuvar yanıtın sitokinler aracılığı ile DOS'ta da paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgularla pre-adölesan dönemde (10,09±3,18 yaş ortalaması) incelediğimiz ve yaklaşık yarısında gingivitis saptadığımız kistik fibrozisli çocukların, adölesan ve erişkin yaşa geldiklerinde periodontitis lezyonuna geçiş yapabilme olasılıklarının fazla olduğu düşünülmektedir. Nitekim bu çocuklarda,

periodontal enflamasyonun dengesini sağlayan pro- ve anti-enflamatuvar sitokinlerin lokal olarak periodontal doku aleyhine bir g6r6n6m arz ettiği saptanmıştır.

Bu bulguların ışığı altında, KF hastalığı, periodontal durum sağlıklı ya da gingivitisli olsun, lokal olarak hiper pro-enflamasyona ve d6ř6k anti-enflamatuvar yanıtı neden olmaktadır. Bu durum, hastalarda gingivitisin periodontitise d6n6ř6m6n6n daha kolay olabileceğini d6ř6nd6rmektedir. Bu nedenle, KF hastalığının, sık aralıklarla periodontal olarak kontrol altına alınması gereken, riskli sistemik hastalık grubunda değerlendirilmesinin 6nemli olacağı kanısındayız.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda KF'li hastalarda klinik periodontal durum incelendi, immünolojik ve biyokimyasal parametreler araştırıldı. Gİ, Pİ, sondlamada kanama yüzdesi, cep derinliği klinik parametreler açısından değerlendirilirken; immünolojik ve biyokimyasal olarak da DOS hacmi, DOS KFTR, ELA2, IL-1 β , IL-10, IL-17 ve β -defensin-1 düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. Mikrobiyolojik olarak ise, dental plak örneklerinde *P. aeruginosa* varlığı araştırıldı. Buna göre;

1. DOS IL-1 β ve ELA2 miktarı, KF grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu.
2. KF grubunda DOS IL-10 miktarı, kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulundu.
3. DOS IL-1 β , ELA2 ve IL-10 düzeyleri alt gruplar açısından değerlendirildiğinde, periodontal açıdan sağlıklı ya da gingivitisli olsun, tüm KF'li gruplarda DOS IL-1 β ve ELA2 düzeyleri sistemik sağlıklı gruplara göre önemli derecede yüksek bulunurken; DOS IL-10 düzeyi ise anlamlı derecede düşük bulundu.
4. KF grubunda DOS β -defensin-1 miktarı, kontrol grubuna göre bütün alt gruplarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu.
5. Mikrobiyolojik olarak *P. aeruginosa*'nın EMB ve MHB besiyerlerinde sadece KF grubundaki örneklerden 4'ünde üreme gözlenirken; aynı gruplarda yapılan PCR değerlendirmelerinde ise *P. aeruginosa* açısından sonuç negatif bulundu.

7. KAYNAKLAR

1. Quinton PM. Human Genetics: What is good about cystic fibrosis? *Current Biology*. 1994;4(8):742-3.
2. Davis PB. Cystic fibrosis. *Pediatrics in review*. 2001;22(8):257-64.
3. Hellerstein HK. Cystic fibrosis of the pancreas in an adult. *The Ohio State medical journal*. 1946;42:616.
4. Rasmussen JE, Sheridan JT, Polk W, Davies CM, Tarran R. Cigarette smoke-induced Ca²⁺ release leads to cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) dysfunction. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(11):7671-81.
5. Kubáň P, Greguš M, Pokojová E, Skříčková J, Foret F. Double opposite end injection capillary electrophoresis with contactless conductometric detection for simultaneous determination of chloride, sodium and potassium in cystic fibrosis diagnosis. *Journal of Chromatography A*. 2014;1358:293-8.
6. Lindemann R, Newman M, Kaufman A, Le T. Oral colonization and susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* oral isolates from cystic fibrosis patients. *Journal of dental research*. 1985;64(1).
7. Schönheyder H, Jensen T, Høiby N, Andersen P, Koch C. Frequency of *Aspergillus fumigatus* isolates and antibodies to *Aspergillus* antigens in cystic fibrosis. *APMIS*. 1985;93(1-6):105-12.
8. Watson K, Kerr E, Hinks C. Distribution of biotypes of *Haemophilus influenzae* and *H parainfluenzae* in patients with cystic fibrosis. *Journal of clinical pathology*. 1985;38(7):750-3.
9. Malfroot A, Verboven M, Levy J, Dab I, Naessens A, Delree M. Suppurative thrombophlebitis with sepsis due to *Candida albicans*: an unusual complication of intravenous therapy in cystic fibrosis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1986;5(3):376.
10. Rubio TT. Infection in patients with cystic fibrosis. *The American journal of medicine*. 1986;81(1):73-7.
11. Speert DP. Host defenses in patients with cystic fibrosis: modulation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathology and Immunopathology Research*. 1985;4(1):14-33.
12. Pier GB. Pulmonary disease associated with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: current status of the host-bacterium interaction. *The Journal of infectious diseases*. 1985;575-80.
13. Döring G, Goldstein W, Botzenhart K, Kharazmi A, Schiøtz P, Høiby N, et al. Elastase from polymorphonuclear leucocytes: a regulatory enzyme in immune complex disease. *Clinical and experimental immunology*. 1986;64(3):597.
14. Becker M, Sauer MS, Muhlebach MS, Hirsh AJ, Wu Q, Verghese MW, Randell SH. Cytokine secretion by cystic fibrosis airway epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169:645-53.
15. Dean TP, Dai Y, Shute JK, Church MK, Warner JO. Interleukin-8 concentrations are elevated in bronchoalveolar lavage, sputum, and sera of children with cystic fibrosis. *Pediatric research*. 1993;34(2):159-61.

16. Bonfield TL, Panuska JR, Konstan MW, Hilliard KA, Hilliard JB, Ghnaim H, et al. Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(6 Pt 1):2111-8.
17. Way EE, Chen K, Kolls JK. Dysregulation in lung immunity - the protective and pathologic Th17 response in infection. *European journal of immunology*. 2013;43(12):3116-24.
18. Tiringier K, Treis A, Fucik P, Gona M, Gruber S, Renner S, et al. A Th17- and Th2-skewed cytokine profile in cystic fibrosis lungs represents a potential risk factor for *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(6):621-9.
19. Chan YR, Chen K, Duncan SR, Lathrop KL, Latoche JD, Logar AJ, et al. Patients with cystic fibrosis have inducible IL-17+IL-22+ memory cells in lung draining lymph nodes. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2013;131(4):1117-29, 29.e1-5.
20. Burgler S, Ouaked N, Bassin C, Basinski TM, Mantel PY, Siegmund K, et al. Differentiation and functional analysis of human T(H)17 cells. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2009;123(3):588-95, 95.e1-7.
21. Tan HL, Regamey N, Brown S, Bush A, Lloyd CM, Davies JC. The Th17 pathway in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184(2):252-8.
22. McAllister F, Henry A, Kreindler JL, Dubin PJ, Ulrich L, Steele C, et al. Role of IL-17A, IL-17F, and the IL-17 receptor in regulating growth-related oncogene-alpha and granulocyte colony-stimulating factor in bronchial epithelium: implications for airway inflammation in cystic fibrosis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2005;175(1):404-12.
23. Rigas B, Korenberg JR, Merrill WW, Levine L. Prostaglandins E 2 and F 2 α Are Elevated in Saliva of Cystic Fibrosis Patients. *American Journal of Gastroenterology*. 1989;84(11).
24. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2001;25(1):8-20.
25. Addy M, Newman H, Langeroudi M, Gho J. Dark-field microscopy of the microflora of plaque. *British dental journal*. 1983;155(8):269.
26. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1998;9(3):248-66.
27. Guentsch A, Pfister W, Cachovan G, Raschke G, Kuepper H, Schaefer O, et al. Oral prophylaxis and its effects on halitosis-associated and inflammatory parameters in patients with chronic periodontitis. *International journal of dental hygiene*. 2014;12(3):199-207.
28. Ebersole J, Singer R, Steffensen B, Filloon T, Kornman K. Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites. *Journal of periodontal research*. 1993;28(6):543-6.
29. Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves D. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *The Journal of Immunology*. 1998;160(1):403-9.
30. Delima AJ, Karatzas S, Amar S, Graves DT. Inflammation and tissue loss caused by periodontal pathogens is reduced by interleukin-1 antagonists. *The Journal of infectious diseases*. 2002;186(4):511-6.

31. Ebersole JL, Schuster JL, Stevens J, Dawson D, Kryscio RJ, Lin Y, et al. Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. *Journal of clinical immunology*. 2013;33(1):271-9.
32. Sasaki H, Suzuki N, Kent R, Kawashima N, Takeda J, Stashenko P. T cell response mediated by myeloid cell-derived IL-12 is responsible for *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis in IL-10-deficient mice. *The Journal of Immunology*. 2008;180(9):6193-8.
33. Walmsley M, Katsikis PD, Abney E, Parry S, Williams RO, Maini RN, et al. Interleukin-10 inhibition of the progression of established collagen-induced arthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 1996;39(3):495-503.
34. Puliti M, von Hunolstein C, Verwaerde C, Bistoni F, Orefici G, Tissi L. Regulatory role of interleukin-10 in experimental group B streptococcal arthritis. *Infection and immunity*. 2002;70(6):2862-8.
35. Ajonuma LC, Lu Q, Cheung BP, Leung WK, Samaranayake LP, Jin L. Expression and localization of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human gingiva. *Cell biology international*. 2010;34(2):147-52.
36. Benedyk M, Byrne DP, Glowczyk I, Potempa J, Olczak M, Olczak T, et al. Pyocyanin, a contributory factor in haem acquisition and virulence enhancement of *Porphyromonas gingivalis* in the lung. *PloS one*. 2015;10(2):e0118319.
37. Finegold SM. Aspiration pneumonia. *Reviews of infectious diseases*. 1991;13 Suppl 9:S737-42.
38. Gan K-H, Geus WP, Bakker W, Lamers C, Heijerman H. Genetic and clinical features of patients with cystic fibrosis diagnosed after the age of 16 years. *Thorax*. 1995;50(12):1301-4.
39. Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathologic study. *American journal of Diseases of Children*. 1938;56(2):344-99.
40. di Sant'Agnese PA, DARLING RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas: clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics*. 1953;12(5):549-63.
41. Sobonya RE, Taussig LM. Quantitative aspects of lung pathology in cystic fibrosis. *American Review of Respiratory Disease*. 1986;134(2):290-5.
42. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B-s, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989;245(4922):1066-73.
43. Collins FS. Cystic fibrosis: molecular biology and therapeutic implications. *Science*. 1992;256(5058):774-9.
44. Naren AP, Cobb B, Li C, Roy K, Nelson D, Heda GD, et al. A macromolecular complex of beta 2 adrenergic receptor, CFTR, and ezrin/radixin/moesin-binding phosphoprotein 50 is regulated by PKA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100(1):342-6.
45. Penmatsa H, Zhang W, Yarlagadda S, Li C, Conoley VG, Yue J, et al. Compartmentalized cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate at the plasma membrane clusters PDE3A and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator into microdomains. *Molecular biology of the cell*. 2010;21(6):1097-110.

46. Cahalan MD, Chandy KG. The functional network of ion channels in T lymphocytes. *Immunological reviews*. 2009;231(1):59-87.
47. Stutts MJ, Rossier BC, Boucher RC. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator inverts protein kinase A-mediated regulation of epithelial sodium channel single channel kinetics. *Journal of Biological Chemistry*. 1997;272(22):14037-40.
48. Tanner M, Taylor C. Liver disease in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood*. 1995;72(4):281.
49. Rosenstein BJ. What is a cystic fibrosis diagnosis? *Clinics in chest medicine*. 1998;19(3):423-41.
50. LeGrys VA. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. *The Journal of pediatrics*. 1996;129(6):892-7.
51. Smith JJ, Travis SM, Greenberg EP, Welsh MJ. Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. *Cell*. 1996;85(2):229-36.
52. LiPuma JJ. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clinical microbiology reviews*. 2010;23(2):299-323.
53. FitzSimmons SC. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *The Journal of pediatrics*. 1993;122(1):1-9.
54. Bakare N, Rickerts V, Bargon J, Just-Nübling G. Prevalence of *Aspergillus fumigatus* and other fungal species in the sputum of adult patients with cystic fibrosis. *Mycoses*. 2003;46(1-2):19-23.
55. Haase G, Skopnik H, Groten T, Kusenbach G, Posselt H. Long-term fungal cultures from sputum of patients with cystic fibrosis. *Mycoses*. 1991;34(9-10):373-6.
56. Moss RB. Cystic fibrosis: pathogenesis, pulmonary infection, and treatment. *Clinical infectious diseases*. 1995:839-49.
57. Dinwiddie R. Pathogenesis of lung disease in cystic fibrosis. *Respiration*. 2000;67(1):3-8.
58. Bonfield TL, Panuska JR, Konstan MW, Hilliard KA, Hilliard JB, Ghnaim H, et al. Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1995;152(6):2111-8.
59. Konstan MW, Berger M. Current Understanding of the Inflammatory Process in Pediatric pulmonology. 1997;24:137-42.
60. Hartl D, Gaggar A, Bruscia E, Hector A, Marcos V, Jung A, et al. Innate immunity in cystic fibrosis lung disease. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2012;11(5):363-82.
61. Konstan MW, Hilliard KA, Norvell TM, Berger M. Bronchoalveolar lavage findings in cystic fibrosis patients with stable, clinically mild lung disease suggest ongoing infection and inflammation. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1994;150(2):448-54.
62. G. Caton J, Armitage G, Berglundh T, Chapple IL, Jepsen S, S. Kornman K, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of periodontology*. 2018;89:S1-S8.
63. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals of periodontology*. 1996;1(1):821-78.

64. Chapple IL, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45:S68-S77.
65. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple IL. Dental plaque-induced gingival conditions. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45:S17-S27.
66. Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *Journal of periodontology*. 1965;36(3):177-87.
67. 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.
68. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45:S44-S67.
69. Novak M. Classification of diseases and conditions affecting periodontium. *Clinical periodontology*. 2002:64-73.
70. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*. 2018;89:S173-S82.
71. Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32(s6):87-107.
72. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*. 1979;6(5):351-82.
73. Patini R, Staderini E, Lajolo C, Lopetuso L, Mohammed H, Rimondini L, et al. Relationship between oral microbiota and periodontal disease: a systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(18):5775-88.
74. Zhang Y, Wang X, Li H, Ni C, Du Z, Yan F. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2018;99:883-93.
75. Slots J, Ashimoto A, Flynn MJ, Li G, Chen C. Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction. *Clinical Infectious Diseases*. 1995;20(Supplement_2):S304-S7.
76. Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 1986;13(5):418-25.
77. Bartold PM, Van Dyke TE. An appraisal of the role of specific bacteria in the initial pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2018.
78. Larsen GL, Henson PM. Mediators of inflammation. *Annual review of immunology*. 1983;1(1):335-59.
79. Janeway Jr CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual review of immunology*. 2002;20(1):197-216.

80. Ambili R, Janam P. A critique on nuclear factor-kappa B and signal transducer and activator of transcription 3: The key transcription factors in periodontal pathogenesis. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2017;21(5):350-6.
81. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *Journal of periodontal research*. 1991;26(3):230-42.
82. Rodrigues M, Barbirato D, Luiz RR, Scharfstein J, Salles GF, Feres-Filho EJ. Effect of antihypertensive therapy with angiotensin-converting enzyme inhibitors on chronic periodontitis: a case-control study. *Oral diseases*. 2016;22(8):791-6.
83. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*. 1994;76(2):301-14.
84. Shah R, Thomas R, Mehta DS. Neutrophil priming: Implications in periodontal disease. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2017;21(3):180-5.
85. Kantarci A, Oyaizu K, Dyke TEV. Neutrophil-mediated tissue injury in periodontal disease pathogenesis: findings from localized aggressive periodontitis. *Journal of periodontology*. 2003;74(1):66-75.
86. Meyle J, Dommisch H, Groeger S, Giacaman RA, Costalonga M, Herzberg M. The innate host response in caries and periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2017;44(12):1215-25.
87. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology 2000*. 1997;14(1):33-53.
88. Silva N, Abusleme L, Bravo D, Dutzan N, Garcia-Sesnich J, Vernal R, et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. *Journal of applied oral science : revista FOB*. 2015;23(3):329-55.
89. Topoll H, Zwadlo G, Lange D, Sorg C. Phenotypic dynamics of macrophage subpopulations during human experimental gingivitis. *Journal of periodontal research*. 1989;24(2):106-12.
90. Zappa U, Reinking-Zappa M, Graf H, Espeland M. Cell populations and episodic periodontal attachment loss in humans. *Journal of clinical periodontology*. 1991;18(7):508-15.
91. Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S. Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *Journal of immunology research*. 2015;2015:615486.
92. Nissinen LM, Kahari VM. Collagen Turnover in Wound Repair--A Macrophage Connection. *The Journal of investigative dermatology*. 2015;135(10):2350-2.
93. Italiani P, Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Frontiers in immunology*. 2014;5:514.
94. Dey A, Allen J, Hankey-Giblin PA. Ontogeny and polarization of macrophages in inflammation: blood monocytes versus tissue macrophages. *Frontiers in immunology*. 2015;5:683.
95. Liang ZZ, Li J, Huang SG. Transforming growth factor beta-1 expression in macrophages of human chronic periapical diseases. *Genetics and molecular research : GMR*. 2017;16(1).
96. Semple F, Dorin JR. beta-Defensins: multifunctional modulators of infection, inflammation and more? *Journal of innate immunity*. 2012;4(4):337-48.
97. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nature reviews Immunology*. 2003;3(9):710-20.

98. Greer A, Zenobia C, Darveau RP. Defensins and LL-37: a review of function in the gingival epithelium. *Periodontol* 2000. 2013;63(1):67-79.
99. Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN, Chen Q, Buffo MJ, Shogan J, et al. Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science*. 1999;286(5439):525-8.
100. Niyonsaba F, Iwabuchi K, Matsuda H, Ogawa H, Nagaoka I. Epithelial cell-derived human beta-defensin-2 acts as a chemotaxin for mast cells through a pertussis toxin-sensitive and phospholipase C-dependent pathway. *International immunology*. 2002;14(4):421-6.
101. Niyonsaba F, Ogawa H, Nagaoka I. Human beta-defensin-2 functions as a chemotactic agent for tumour necrosis factor-alpha-treated human neutrophils. *Immunology*. 2004;111(3):273-81.
102. Dale BA, Krisanaprakornkit S. Defensin antimicrobial peptides in the oral cavity. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2001;30(6):321-7.
103. Gursoy UK, Pollanen M, Kononen E, Uitto VJ. A novel organotypic dento-epithelial culture model: effect of *Fusobacterium nucleatum* biofilm on B-defensin-2, -3, and LL-37 expression. *J Periodontol*. 2012;83(2):242-7.
104. Dommisch H, Acil Y, Dunsche A, Winter J, Jepsen S. Differential gene expression of human beta-defensins (hBD-1, -2, -3) in inflammatory gingival diseases. *Oral microbiology and immunology*. 2005;20(3):186-90.
105. Schenkein HA. Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontology* 2000. 2006;40(1):77-93.
106. Bi J, Dai J, Koivisto L, Larjava M, Bi L, Hakkinen L, et al. Inflammasome and cytokine expression profiling in experimental periodontitis in the integrin beta6 null mouse. *Cytokine*. 2018.
107. Costa FO, Cortelli SC, Silva TA, Costa AA, Lima RPE, Cortelli JR, et al. Cytokine levels in crevicular fluid associated with compliance during periodontal maintenance therapy. *Clin Oral Investig*. 2018.
108. Kelso A. Cytokines in infectious disease. *Aust Microbiol*. 1990;11:372-6.
109. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest Journal*. 2000;117(4):1162-72.
110. Cafferata EA, Jerez A, Vernal R, Monasterio G, Pandis N, Faggion CM, Jr. The therapeutic potential of regulatory T lymphocytes in periodontitis: A systematic review. *J Periodontal Res*. 2018.
111. Acharya AB, Thakur S, Muddapur MV, Kulkarni RD. Cytokine ratios in chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & metabolic syndrome*. 2017;11(4):277-8.
112. Munoz C, Carlet J, Fitting C, Misset B, Bleriot J, Cavaillon J. Dysregulation of in vitro cytokine production by monocytes during sepsis. *Journal of Clinical Investigation*. 1991;88(5):1747.
113. Dinarello CA. Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *International reviews of immunology*. 1998;16(5-6):457-99.
114. Kelso A. Th1 and Th2 subsets: paradigms lost? *Immunology today*. 1995;16(8):374-9.

115. Zedler S, Bone RC, Baue AE, Donnersmarck GHv, Faist E. T-cell reactivity and its predictive role in immunosuppression after burns. *Critical care medicine*. 1999;27(1):66-72.
116. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2000;85(1):9-18; quiz , 21.
117. Gonzalez JF, Hahn MM, Gunn JS. Chronic biofilm-based infections: skewing of the immune response. *Pathogens and disease*. 2018;76(3).
118. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:485-517.
119. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alternative medicine review*. 2003;8(3):223-46.
120. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontologica Scandinavica*. 2001;59(3):167-73.
121. Seymour G, Gemmell E, Reinhardt R, Eastcott J, Taubman M. Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. *Journal of periodontal research*. 1993;28(6):478-86.
122. Chen XT, Chen LL, Tan JY, Shi DH, Ke T, Lei LH. Th17 and Th1 Lymphocytes Are Correlated with Chronic Periodontitis. *Immunological investigations*. 2016;45(3):243-54.
123. Gemmell E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2004;35(1):21-41.
124. Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta odontologica scandinavica*. 1964;22(1):121-35.
125. Løe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta odontologica scandinavica*. 1963;21(6):533-51.
126. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International dental journal*. 1975;25(4):229-35.
127. Rüdín H, Overdiek H, Rateitschak K. Correlation between sulcus fluid rate and clinical and histological inflammation of the marginal gingiva. *Helvetica odontologica acta*. 1970;14(1):21.
128. Nonnenmacher C, Stelzel M, Susin C, Sattler AM, Schaefer JR, Maisch B, et al. Periodontal microbiota in patients with coronary artery disease measured by real-time polymerase chain reaction: a case-control study. *Journal of periodontology*. 2007;78(9):1724-30.
129. Christodoulides N, Nikolidakis D, Chondros P, Becker J, Schwarz F, Rössler R, et al. Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized, controlled clinical trial. *Journal of periodontology*. 2008;79(9):1638-44.
130. Adriaens LM, Alessandri R, Spörri S, Lang NP, Persson GR. Does pregnancy have an impact on the subgingival microbiota? *Journal of periodontology*. 2009;80(1):72-81.
131. Laine ML, Farré MA, Crusius JBA, van Winkelhoff AJ, Peña AS. The mouthwash: a non-invasive sampling method to study cytokine gene polymorphisms. *Journal of periodontology*. 2000;71(8):1315-8.

132. Souto R, Silva-Boghossian CM, Colombo APV. Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2014;45(2):495-501.
133. Adib-Conquy M, Pedron T, Petit-Bertron AF, Tabary O, Corvol H, Jacquot J, et al. Neutrophils in cystic fibrosis display a distinct gene expression pattern. *Molecular medicine (Cambridge, Mass)*. 2008;14(1-2):36-44.
134. Venkatakrishnan A, Stecenko AA, King G, Blackwell TR, Brigham KL, Christman JW, et al. Exaggerated Activation of Nuclear Factor- κ B and Altered I κ B- β Processing in Cystic Fibrosis Bronchial Epithelial Cells. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2000;23(3):396-403.
135. Rottner M, Kunzelmann C, Mergey M, Freyssinet J-M, Martínez MC. Exaggerated apoptosis and NF- κ B activation in pancreatic and tracheal cystic fibrosis cells. *The FASEB Journal*. 2007;21(11):2939-48.
136. Pier GB, Grout M, Zaidi TS. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is an epithelial cell receptor for clearance of *Pseudomonas aeruginosa* from the lung. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997;94(22):12088-93.
137. Pier GB, Grout M, Zaidi T, Meluleni G, Mueschenborn SS, Banting G, et al. *Salmonella typhi* uses CFTR to enter intestinal epithelial cells. *Nature*. 1998;393(6680):79-82.
138. Taggart C, Coakley RJ, Grealley P, Canny G, O'Neill SJ, McElvaney NG. Increased elastase release by CF neutrophils is mediated by tumor necrosis factor- α and interleukin-8. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*. 2000;278(1):L33-41.
139. Khoshniat S, Bourguine A, Julien M, Weiss P, Guicheux J, Beck L. The emergence of phosphate as a specific signaling molecule in bone and other cell types in mammals. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2011;68(2):205-18.
140. Spina A, Sorvillo L, Di Maiolo F, Esposito A, D'Auria R, Di Gesto D, et al. Inorganic phosphate enhances sensitivity of human osteosarcoma U2OS cells to doxorubicin via a p53-dependent pathway. *Journal of cellular physiology*. 2013;228(1):198-206.
141. Bonfield TL, Konstan MW, Burfeind P, Panuska JR, Hilliard JB, Berger M. Normal bronchial epithelial cells constitutively produce the anti-inflammatory cytokine interleukin-10, which is downregulated in cystic fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1995;13(3):257-61.
142. Ebersole JL, Taubman MA. The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontology 2000*. 1994;5(1):112-41.
143. Soltys J, Bonfield T, Chmiel J, Berger M. Functional IL-10 deficiency in the lung of cystic fibrosis (cftr(-/-)) and IL-10 knockout mice causes increased expression and function of B7 costimulatory molecules on alveolar macrophages. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2002;168(4):1903-10.
144. Cosmi L, De Palma R, Santarlasci V, Maggi L, Capone M, Frosali F, et al. Human interleukin 17-producing cells originate from a CD161+CD4+ T cell precursor. *The Journal of experimental medicine*. 2008;205(8):1903-16.
145. Raymond M, Van VQ, Wakahara K, Rubio M, Sarfati M. Lung dendritic cells induce T(H)17 cells that produce T(H)2 cytokines, express GATA-3, and promote airway inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011;128(1):192-201.e6.

146. Bayes HK, Bicknell S, MacGregor G, Evans TJ. T helper cell subsets specific for *Pseudomonas aeruginosa* in healthy individuals and patients with cystic fibrosis. *PLoS One*. 2014;9(2):e90263.
147. Singh PK, Jia HP, Wiles K, Hesselberth J, Liu L, Conway BA, et al. Production of beta-defensins by human airway epithelia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(25):14961-6.
148. Agarwal G, Kapil A, Kabra SK, Das BK, Dwivedi SN. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chronically infected children with cystic fibrosis in India. *BMC microbiology*. 2005;5(1):43.
149. Oliver A, Cantón R, Campo P, Baquero F, Blázquez J. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science*. 2000;288(5469):1251-3.
150. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284(5418):1318-22.

8. EKLER

EK 1. ETİK KURUL



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

Sayı : 16969557 - 811

Konu :

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 09 AĞUSTOS 2016 SALI
Toplantı No : 2016/16
Proje No : GO 16/489 (Değerlendirme Tarihi: 26.07.2016)
Karar No : GO 16/489- 10

Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ayşe Ezel BERKER'in sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Meryem TEKÇİÇEK, Prof. Dr. Burçin ŞENER, Dr. Dt. Emel Tuğba Ataman DURUEL ile birlikte çalışacakları Dt. Onurcem DURUEL'in Doktora Tezi olan, GO 16/489 kayıt numaralı ve "*Kistik Fibrozis Hastalarında Kistik Fibrozis Periodontal Durum İlişkisinin Klinik, İmmünolojik ve Mikrobiyolojik Olarak Değerlendirilmesi*" başlıklı proje önerisi araştırmannın 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 GİRGIN (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 YALCIN (Üye) | 17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGELEN (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye) | 18. Av. Meltem ONURLU (Üye) |

EK 2. DİJİTAL MAKBUZ

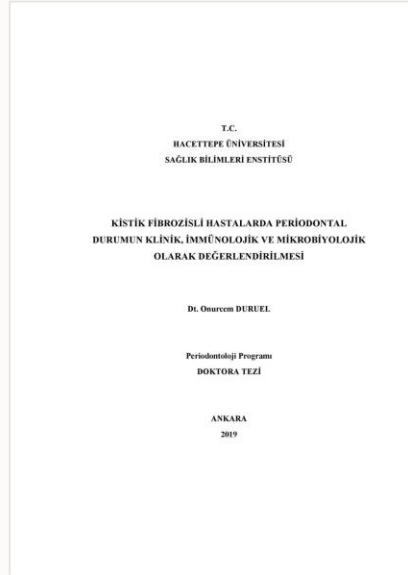


Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Onurcem Duruel
Ödev başlığı: Tez deneme
Gönderi Başlığı: KİSTİK FİBROZİSLİ HASTALARDA P..
Dosya adı: intial.docx
Dosya boyutu: 203.44K
Sayfa sayısı: 47
Kelime sayısı: 10,766
Karakter sayısı: 77,456
Gönderim Tarihi: 04-Oca-2019 10:10AM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1061437866



EK 3. ORJİNALLİK RAPORU

KİSTİK FİBROZİSLİ HASTALARDA PERİODONTAL DURUMUN KLİNİK, İMMÜNOLOJİK VE MİKROBİYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

ORIJİNALLIK RAPORU

% 16 BENZERLİK ENDEKSİ	% 15 İNTERNET KAYNAKLARI	% 7 YAYINLAR	% 3 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	---------------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	katalog.hacettepe.edu.tr İnternet Kaynağı	% 8
2	bekircakir.com İnternet Kaynağı	% 1
3	www.readperiodicals.com İnternet Kaynağı	% 1
4	www.ofthalmoloji.org İnternet Kaynağı	<% 1
5	kalite.saglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	tsn.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
8	dspace.baskent.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1

9. ÖZGEÇMİŞ

Ad: **Onurcem**
 Soyad: **DURUEL**
 Doğum tarihi: 1989
 Doğum yeri: Aydın, Türkiye
 E-mail: onurcem@hacettepe.edu.tr

Eğitim

2003 – 2007 Adnan Menderes Anadolu Lisesi, Aydın, Türkiye.
 2007 – 2012 **Diş Hekimliği Lisans Eğitimi (DDS)**, Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ankara, Türkiye.
 2013 – 2019 **Doktora Eğitimi (PhD)**, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Programı, Ankara, Türkiye.
 Danışman: Prof. Dr. Ezel Berker
 2017 University of Illinois at Chicago, College of Dentistry, Department of Periodontics, Chicago, Illinois, USA. Misafir araştırmacı.
 Danışman: Prof. Dr. Tolga F. Tözüm

Bilimsel Yayınlar

Makaleler

1. Genç T, **Duruel O**, Kutlu HB, Dursun E, Karabulut E, Tözüm TF. Evaluation of anatomical structures and variations in the maxilla and the mandible before dental implant treatment. Dent Med Probl. 2018 Jul-Sep;55(3):233-240. doi: 10.17219/dmp/94303. PMID:30328299.

2. Ataman-Duruel ET, **Duruel O**, Turkyilmaz I, Tözüm TF. Anatomic Variation of Posterior Superior Alveolar Artery: Review of Literature and Case Introduction. J Oral Implantol. 2018 Aug 30. doi: 10.1563/aaid-joi-D-18-00056. PMID:30160599.

Poster Sunumları

1. Genç T, **Duruel O**, Şahin D. Free gingival graft operation aiming to increase soft tissue quality before bone augmentation procedure: A case report. 44th Scientific Meeting of Turkish Periodontology Association, İstanbul, Turkey 2014:111.
2. Dursun E, **Duruel O**, Muhtaroğulları M, Hatipoğlu H. Dental implant rehabilitation of a patient with ligneous periodontitis: A case report with 1-year-follow-up. Europerio 8 Congress, London, UK. 2015:1099.
3. **Duruel O**, Duruel ET. Horizontal and vertical soft tissue augmentation around dental implants: A case report. 8th Annual International Symposium of Advanced Protocols in Oral Implantology, Global Dental Implant Academy, Antalya, Turkey 2016:21.
4. **Duruel O**, Duruel ET, Ersu B. Posterior free gingival graft surgery for tissue maintenance around dental implants: A case report. 8th Annual International Symposium of Advanced Protocols in Oral Implantology, Global Dental Implant Academy, Antalya, Turkey 2016:37.
5. **Duruel O**, Kutlu B, Bayram ZC, Keçeli G. Replantation as an alternative treatment for hopeless teeth: A case report. 46th Scientific Meeting of Turkish Periodontology Association, İzmir, Turkey 2016:45.
6. **Duruel O**, Duruel ET, Öztürk AÇ, Keçeli G. Vestibuloplasty operation for total prosthesis stabilization: A case report. 46th Scientific Meeting of Turkish Periodontology Association, İzmir, Turkey 2016:46.
7. **Duruel O**, Özdemir M, Çağlayan F. Surgical reconstruction of gingival margin discrepancies after orthodontics treatment: A case report. 46th Scientific Meeting of Turkish Periodontology Association, İzmir, Turkey 2016:48.

8. **Duruel O**, Ataman-Duruel ET, Tözüm TF, Berker E. Gummy smile treatment by botulinum toxin injection: A case report. Europerio 9 Congress, Amsterdam, Netherlands 2018:PC097
9. **Duruel O**, Yakar N, Güncü GN, Karabulut E, Yamalık N. The impact of gender and level of education on the demand for dental implants. Europerio 9 Congress, Amsterdam, Netherlands 2018:PR538
10. Yakar N, **Duruel O**, Güncü GN, Karabulut E, Yamalık N. The reasons of the demand of patients for dental implant treatment. Europerio 9 Congress, Amsterdam, Netherlands 2018:PR540
11. **Duruel O**, Ataman-Duruel ET, Berker E, Tözüm TF. Treatment of Asymmetric Gummy Smile by Using Botulinum Toxin-A Injection. 24th International Dental Congress, Ankara, Turkey 2018:P-290.
12. **Duruel O**, Kütük C, Bayram C, Keçeli HG. Treatment of hopeless malpositioned tooth with replantation after apical drilling: A case report. 24th International Dental Congress, Ankara, Turkey 2018:P-303.
13. **Duruel O**, Mercan B, Akman AC. Block graft or crest split surgery for horizontal augmentation? 24th International Dental Congress, Ankara, Turkey 2018:P-306.
14. **Duruel O**, Din F, Aktaş G, Ersu B, Keçeli HG. Rehabilitation of anterior aesthetics with crown lengthening and immediate implantation simultaneously. 24th International Dental Congress, Ankara, Turkey 2018:P-308.
15. Aytac EN, Erduran NE, **Duruel O**, Güncü GN. Treatment of circumferential bone defect with sticky bone matrix: A case report. 24th International Dental Congress, Ankara, Turkey 2018:P-309.
16. **Duruel O**, Gür AT, Mercan B, Akalın FA. Soft tissue augmentation via free gingival graft around dental implants: A case report. 48th Scientific Meeting of Turkish Periodontology Association, Antalya, Turkey 2018:PS-008.
17. Aytac EN, **Duruel O**, Güncü GN. Treatment of periimplantitis with bone graft matrix (sticky bone): A case report. 48th Scientific Meeting of Turkish Periodontology Association, Antalya, Turkey 2018:PS-030.