

Periodontal Diagnostik Biyobelirteç Olarak Diş Eti Oluğu Sıvısındaki Konak Kaynaklı Enzimler-Bölüm 1

Host Derived Enzymes in Gingival Crevicular Fluid as a Periodontal Diagnostic Biomarker-Part 1: Review

Özge GÖKTÜRK,^a
Hümeysra AYDEMİR TURKAL,^a
Fatma UÇAN YARKAÇ,^a
FeYZa TÜLÜ^a

^aPeriodontoloji AD,
Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi, Tokat

Geliş Tarihi/Received: 20.10.2015
Kabul Tarihi/Accepted: 26.05.2016

Yazışma Adresi/Correspondence:
FeYZa TÜLÜ
Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi,
Periodontoloji AD, Tokat,
TÜRKİYE/ TURKEY
feiza_tulu@yahoo.com

ÖZET Bu çalışma, diş eti oluğu sıvısındaki (DOS) periodontal hastalık tanısının konulmasına yardımcı olan konak kaynaklı enzimlere ve onların inhibitörlerine odaklanılan çalışmanın ilk kısmıdır. İnflamatuar bir durum olan periodontit, alveolar kemik rezorpsiyonu, periodontal ataşman kaybı ve bağ dokusunun yıkımı ile karakterizedir. Periodontal cep derinliği, ataşman seviyesi, sondalamada kanama gibi olağan periodontal ölçümler periodontal hastalıkların teşhisi için gereklidir. Ancak hastalığın şiddetinin, prognozunun ve tedaviye verilen yanıtın değerlendirilmesinde yetersiz kalabilirler. DOS, periodontal hastalık ilerlemesi için olası biyolojik belirteç olarak belirtilmiş 65'den fazla bileşenden oluşmaktadır. Bu tür bileşenlerin varlığının incelenmesi, periodontal hastalığın derecesinin ya da periodontal tedavinin sonuçlarının değerlendirilmesinde faydalı olabilir. Bu çalışma, "Pubmed" veri tabanında periodontal hastalık, diş eti oluğu sıvısı ve enzimler anahtar kelimeleriyle araştırılan, 1970-2015 yılları arasında yayınlanmış makaleler incelenerek hazırlanmıştır. İlk bölümde; aspartat aminotransferazı, alkalen fosfatazı, asit fosfatazı, beta glukuronidazı, nötrofil elastazı, elastaz inhibitörlerini, katepsinleri, tripsin-benzeri enzimleri içeren konak kaynaklı enzimlere ve onların inhibitörlerine odaklanılmıştır. İkinci bölümde de, immünoglobulin parçalayıcı proteazı, glukozidazı, dipeptidil peptidazı, spesifik olmayan nötral proteinazları, metalloproteinazları, metalloproteinaz doku inhibitörünü, miyeloperoksidazı, laktat dehidrogenazı, arilsülfatazı, β-N-asetil hekzoaminidazı içeren konak kaynaklı enzimlere ve onların inhibitörlerine odaklanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Periodontal hastalıklar; diş eti oluğu sıvısı; enzimler

ABSTRACT This article is the first part of a review of studies on the host-derived enzymes and their inhibitors which helps the diagnosis of periodontal disease in gingival crevicular fluid (GCF). Periodontitis is an inflammatory condition characterized by inflammatory destruction of connective tissues, loss of periodontal attachment and resorption of alveolar bone. Conventional periodontal measures such as periodontal pocket depth, attachment level and bleeding on probing are essential for the diagnosis of periodontal diseases. However there may be insufficient to determine the degrees of disease severity, prognosis of the disease and response to treatment. GCF constituents are comprised of more than 65 components that have been reported as possible biomarkers for progression of periodontal disease. Investigation of the existence of such components may be useful in assessing periodontal disease level or the results of periodontal treatment. This review is prepared the articles, which researched with periodontal disease, gingival crevicular fluid and enzymes from "PUBMED" database, published between 1974-2015. Part 1 focuses on some of the host-derived enzymes and their inhibitors enzymes including aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, acid phosphatase, beta glucuronidase, neutrophil elastase, elastase inhibitors, cathepsins, trypsin-like enzymes. Part 2 focuses on some of the host-derived enzymes and their inhibitors enzymes including immunoglobulin degrading proteases, glucosidase, dipeptidyl peptidase, nonspecific neutral proteinases, metalloproteinases, tissue inhibitor of metalloproteinases, myeloperoxidase, lactate dehydrogenase, arylsulfatase, β-N-acetyl hexosaminidase.

Key Words: Periodontal diseases; gingival crevicular fluid; enzymes

doi: 10.5336/dentalsci.2015-48350

Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Dental Sci 2016;22(3):209-16

Periodontal hastalık (jinjivitis ve periodontit), mikrobiyal biyofilm tarafından uyarılan diş destek dokusu ile diş etinin inflamatuvar sürecidir.¹ Periodontitte, bağ dokusu yıkımı, periodontal ataşman kaybı ve alveolar kemiğin rezorpsiyonu ile karakterizedir. Patojenik bakteri ile konağın immün ve inflamatuvar tepkileri arasındaki etkileşimin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bağışıklık sistemi, lokal mikrobiyal ataklara ve onların zararlı ürünlerinin diş eti dokularına invazyonuna karşı korumak için devreye girer.² Periodonsiyumu etkileyen hastalıkların tanısı son-dalanan cep derinliği, klinik ataşman seviyesi, son-dalamada kanama, plak indeksi gibi klinik ölçümler ve radyografik veriler esas alınarak yapılır.³ Bununla birlikte, bu yöntemler sadece, hastalık aktivitesinin son hâlini değerlendirmek için yararlıdır. Aktif hastalık durumunu değerlendirmek ve periodontal tedaviye yanıtın izlenmesi için güvenilir tanı yöntemleri gereklidir.⁴

Hastalık sürecinde meydana gelen inflamatuvar yanıtın ürünleri diş eti oluşu sıvısı (DOS)'nda bulunabilir. Bu tür bileşenlerin varlığının belirlenmesi, periodontal hastalık durumunun ya da periodontal tedavinin sonuçlarını değerlendirirken yardımcı olabilir.⁵

DOS, inflamatuvar konak hücreleri, periodonsiyumun yapısal hücreleri ve oral bakteriler ile serumdan meydana gelen maddelerin bir karışımıdır. Jinjival pleksustan kaynaklanır ve diş eti oluşuna ulaşmak için diş bazal membran ve birleşim epiteline doğru akar.² Sağlıklı sulkusta DOS miktarı çok azdır. Ayrıca, DOS bileşenleri en koronalde direkt dişe tutunmuş (DAT) hücreleri içeren birleşim epitelinin fonksiyonuna da katılırlar. İnflamasyon sırasında DOS akışı artar ve bileşimi inflamatuvar eksüdaya benzemeye başlar. Artmış DOS akışı, bakteri kolonileri ve onların metabolitlerini sulkustan uzaklaştırarak konak savunmasına katkıda bulunur, dolayısıyla dokuya nüfuz etmelerini engeller.⁶

DOS'un akışı periodontal cep ya da sulkus ekolojisinin önemli bir belirleyicisidir. Temizleme ve izolasyon etkisi oluşturur. Buna ek olarak, subjinjival mikroorganizmaların büyüme düzeyini belirler

ve periodontal hastalık aktivitesi için potansiyel bir belirteçtir. Altmış beşten fazla DOS bileşeni periodontal hastalıktaki olası belirteçler olarak incelenmiştir.⁷ Bu bileşenler üç genel kategoriye ayrılmıştır.⁸

1) Konak kaynaklı enzimler ve onların inhibitörleri,

2) İnflamasyon mediyatörleri ve konak yanıtı değiştiriciler,

3) Doku yıkım ürünleri.

Bu çalışmanın birinci ve ikinci kısımlarında, periodontal bir tanı belirteci olan DOS'taki konak kaynaklı enzimler ve onların inhibitörlerine değinilmiştir (Tablo 1, 2).

ASPARTAT AMİNOTRANSFERAZ

Aspartat aminotransferaz (AST), hücre içi sitoplazmik çözüner bir enzimdir. Doku zararı meydana geldiğinde, zedelenmiş veya ölü hücrelerden hücre dışı ortama AST salınır.¹⁰ Hücre ölümüne bağlı olarak çevreye serbest bırakılan AST'nin hücre dışı ortamda görülmesi hücre nekrozunun ve doku yıkımının belirleyicisidir.¹¹ Periodontal doku yıkımının meydana geldiği periodontal hastalıklarda, AST'nin DOS'ta bulunmasının periodontal hastalık aktivitesi ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. AST'nin DOS'ta bulunduğunu ilk gösteren Chambers ve ark., köpeklerdeki deneysel periodontit çalışması ile AST aktivitesi kaynağının önemli ölçüde periodontal dokuların hücre hasarına bağlı olduğunu göstermişlerdir.¹²

Daha sonraki çalışmalarda da periodontal dokulardaki yıkım ve inflamasyonun bir göstergesi olarak DOS'ta ve implant çevresi oluk sıvısı (İÇOS)'nda artmış AST seviyeleri gösterilmiştir.^{10,13-16}

ALKALEN FOSFATAZ

Alkalen fosfataz (ALP), kalsiyum ve fosfat-bağlayıcı protein ve bir fosfor hidrolitik enzim grubunun ismidir.¹⁷ Diş eti oluşu ve periodonsiyumdaki polimorfonükleer nötrofiller (PMN), osteoblastlar, makrofajlar ve fibroblastlar gibi birçok hücre tarafından üretilen membrana bağlı bir glikoprotein-

TABLO 1: Diş eti olgu sıvısındaki konak kaynaklı enzimler ve onların inhibitörleri.⁹

Aspartat aminotransferaz
Alkalin fosfataz
Asit fosfataz
β -glukuronidaz
Elastaz
Elastaz inhibitörleri
α 2-makroglobulin
α 1-proteinaz inhibitörü
Katepsinler
Sistein proteinazları (B, H, L)
Serin proteinaz (G)
Katepsin D
Tripsin-benzeri enzimler
İmmünglobulin parçalayıcı enzimler
Dipeptidil peptidazlar
Spesifik olmayan nötral proteinazlar
Kollajenazlar
Matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1)
Matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3)
Matriks metalloproteinaz-8 (MMP-8)
Matriks metalloproteinaz-13 (MMP-13)
Jelatinazlar
Matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2)
Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9)
Matriks metalloproteinaz-1 doku inhibitörü (TIMP-1)
Stromelisinler
Miyeloperoksidaz
Laktat dehidrojenaz
Arilsülfataz
β -N-asetil heksoaminidaz

dir. Deskuame epitel hücreleri ve dental plak bakterilerinin yanı sıra parotis, submandibuler ve küçük tükürük bezlerinde de saptanmıştır.¹⁸

ALP kemik metabolizmasında, mineralizasyon ve kollajen formasyonunda rol alır. DOS'un önemli bir biyokimyasal bileşeni olarak ALP'yi, Ishikawa ve Cimasoni ilk kez 1970 yılında belirtmişlerdir.¹⁹ Kemik oluşumu esnasında kemikteki osteoblastik hücrelerden sentez edilir. Bu yüzden osteoblast hücreleri için fenotipik bir işaretleyicidir ve kemik oluşumunun önemli bir göstergesi olarak kabul edilebilir.¹⁷ ALP kemik metabolizması ve değişiklikleri ile ilişkili olduğundan, DOS'daki seviyeleri

periodontal hastalık aktivitesinin alana spesifik bir göstergesi olabilir. ALP'nin DOS'da ölçümü genellikle periodontal durum ve hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi araştırmak için yapılmıştır.¹⁸ Birçok araştırmacı DOS'daki ALP aktivitesi ile periodontal doku yıkımı, ataşman kaybı ve inflamasyon arasındaki pozitif ilişkiyi göstermişlerdir.^{17,20,21}

Ayrıca, periimplantitis olan ve olmayan implantların İÇÖS'lerinde saptanan ALP seviyelerinin de farklı olduğu ve ALP'nin implant çevresindeki kemik kaybının bir belirteci olabileceği belirtilmiştir.^{22,23}

ASİT FOSFATAZ

Asit fosfataz, serum ve dokudaki asit ve ALP aktivitesinin izlenmesinde, kemik döngüsünü değerlendirmek için sıkça kullanılır. Kemik oluşumu ALP aktivitesinin artışı ile ilişkiliyken, kemik rezorpsiyonu asit fosfataz seviyesinin artışı ile ilişkilidir.²⁴ Asit fosfataz, hücre içinde lizozomlarda bulunan hidrolitik bir enzimdir. Dokulardaki yıkım, hücre bütünlüğünün bozulması ve hücrelerin ölümü ile lizozomal enzimler hücre dışına akarlar.²⁵

DOS'da hücre dışı asit fosfataz bulunması, birleşim epiteli veya bağ dokusunun deskuame epitel hücrelerinde lizozomal enzimlerin birikimini temsil etmektedir. Buna genellikle bakteriler sebep olur ve patolojik cep oluşumunda önemli bir rol oynayabilirler.²⁵ Ancak diş eti oluştuktaki asit fosfataz seviyesi hastalık şiddet ve aktivitesiyle ilişkili değildir.⁹

BETA GLUKURONİDAZ

Beta (β)-glukuronidaz lizozomal bir asit hidrolazdır.²⁶ Azurofil olarak da bilinen PMN'lerin primer granüllerinde bulunan önemli bir enzimdir. β -glukuronidaz, hiyalürinaz ile birlikte, periodontal bağ dokusunun ana madde yapısında kritik bir öneme sahip olan proteoglikanların yıkımında aktiftirler.^{26,28}

Bir endoglikozidaz olan hiyalüronidaz, heksoaminidik bağları (GlcUA- β 1,3-GlcNAc β 1,4) ayırıp tetrasakkaritleri oluşturur. β -glukuronidaz da büyük tetrasakkaritlerin indirgeyici olmayan uç kı-

TABLO 2: Bölüm 1'deki konak kaynaklı enzim ve inhibitörlerin DOS'ta tanısal bir biyobelirteç olarak kullanıldığı çalışmalar.

Aspartat aminotransferaz	Persson ve ark. ^{10,13} , Oringer ve ark. ¹¹ , Chambers ve ark. ¹² , Paolantonio ve ark. ¹⁴ , Yucekal-Tuncer ve ark. ¹⁵ , Sánchez-Pérez ve ark. ¹⁶ .
Alkalin fosfataz	Daltaban ve ark. ¹⁸ , Ishikawa ve ark. ¹⁹ , Binder ve ark. ²⁰ , Plagnat ve ark. ²² , Paknejad ve ark. ²³
Asit fosfataz	Binder ve ark. ²⁰ , Insoft ve ark. ²⁴
β -glukuronidaz	Layik ve ark. ²⁷ , Marakoğlu ve ark. ²⁸ , Albandar ve ark. ³⁰ , Lamster ve ark. ³¹
Elastaz	Gustafsson ve ark. ³⁵ , Ingman ve ark. ³⁶ , Figueredo ve ark. ^{37,38} , Ito ve ark. ³⁹
Elastaz inhibitörleri	
α 2-makroglobulin	Ertugrul ve ark. ⁴⁵
α 1-proteinaz inhibitörü	Ohlsson ve ark. ⁴⁰ , Cox ve ark. ⁴³
Katepsinler	
Sistein proteinazları (B, H, L)	Kunimatsu ve ark. ⁴⁹ , Chen ve ark. ⁵⁰
Serin proteinaz (G)	Kunimatsu ve ark. ⁷³
Katepsin D	Buchmann ve ark. ⁷²
Tripsin-benzeri enzimler	Loesche ve ark. ⁶⁸

sımlarından GlcUA'yı uzaklaştırarak periodontal hastalıklarda kollajen olmayan matriks yıkımına katkı sağlar.²⁹ Çalışmalarda, DOS'daki β -glukuronidaz aktivitesinin cep derinliği ve ataşman kaybı gibi klinik parametrelerle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, periodontal hastalık ve sonrasında tedaviye verilen yanıt için de iyi bir belirteç olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.^{27,30,31}

NÖTROFİL ELASTAZ

Nötrofil elastaz (NE), endopeptidazlardan bir serin proteazdır, plazma proteinlerinin yanı sıra hemen hemen tüm hücre dışı matriks bileşenlerini parçalayabilen en önemli yıkıcı enzimlerden biridir. NE, aynı zamanda latent pro matriks metalloproteinazları (proMMP) aktive ve matriks metalloproteinaz doku inhibitörü 1 (TIMP-1)'i inaktive ederek MMP kaskadını hızlandırabilir.³² Yüksek konsantrasyonda NE konak savunmasında önemli bir basamak olan PMN'lerin azurofilik granüllerinde depolanır. Aktive olduğunda, ekstraselüler boşluğa hızla salınabilir ve lokal doku hasarına neden olur.³ NE, inflamatuvar doku hasarının çok önemli bir mediyatörüdür. Hastalığın dokuda başlaması ve periodontite ilerlemesine katkıda bulunabilir.^{33,34} Kronik periodontitli alanlarda DOS'daki elastaz aktivitesi ve miktarında artış olduğu gösterilmiştir.^{35,36} Cep derinliği ve ataşman kaybının artma-

sıyla, DOS'daki aktif elastaz varlığının arttığı ve mekanik periodontal tedavi sonrası azaltılabileceği gösterilmiştir.^{37,38} Periodontal tedaviden sonra, hasta takibi aşamasında NE aktivitesinin ölçümü, periodontal tedavinin etkinliğini ölçmek için yararlı olabilir.³⁹

ELASTAZ İNHİBİTÖRLERİ

Endojen elastaz inhibitörleri, dokuları nötrofil elastazların düzensiz proteolizinden korumak için önemlidir. NE dolaşıma katıldığında hızla elastaz inhibitörleri ile konjuge olarak inaktive edilir.³ α 2-makroglobulin ve α 1-antitripsin (α 1-proteaz inhibitörü) başlıca elastaz inhibitörleridir.⁴⁰ α 1-antikimotripsin, serin proteaz inhibitör (SERPİN) ailesinden üçüncü fizyolojik inhibitördür.⁴¹

α 1-antikimotripsin, nötrofil proteinaz katepsin G'yi ve mast hücre kimazlarını engeller.⁴¹ Hepatositler tarafından sentezlenen ve seruma salınan bir plazma glikoproteinidir.⁴²

Serumdaki total proteaz inhibitör kapasitesinin %90'ından fazlası α 1-antitripsindir.⁴⁰ α 1-antitripsin ile elastaz kompleksi (Enzim ve inhibitörünün önemli bir kısmı bu formda bulunabilir) DOS'da kolaylıkla saptanabilir.⁴³ Serumda α 1-antitripsinin eksikliği aynı zamanda kemotaktik faktör inaktivatör eksikliğidir.⁴⁰ Karaciğerden salınan

bir akut faz proteindir ve inflamasyon esnasında konsantrasyonu artar.⁴⁴ α 1-antitripsin başlıca serin proteazları (elastaz ve katepsin G'yi) ve kısmen de memeli kollajenazını inaktive eder. α 1-antitripsin ve α 2-makroglobulinin her ikisi de serumda bulunanın dörtte üçü konsantrasyonda DOS'da bulunmuştur. İnflame diş etinden alınan DOS örneklerinde tedavi sonrası aynı alandan toplanan örneklerle göre iki kat daha fazla α 2-makroglobulin bulunmuştur.⁹

α 2-makroglobulin serumda bulunan çok değerlikli bir homotetramerik inhibitördür. Proteazların tüm sınıflarını inhibe eder. Yüksek molekül ağırlığından dolayı nötrofillerin inflamasyon alanına toplanması sırasında inflamasyon alanlarına difüzyonu zayıf olduğundan, muhtemel rolü dolaşımda proteaz aktivitesinin kontrolü ile sınırlıdır.⁴² α 2-makroglobulin periodontitte doku yıkımıyla ilişkilidir. İmmün yanıtın düzenlenmesinde önemli rol oynar. %8 karbonhidrattan oluşan bir plazma proteindir. α 2-makroglobulin proteazları inhibe eder, fakat immünolojik veya inflamatuvar süreçteki bu rolü tam olarak bilinmemektedir.⁴⁵

Sekretuar lökosit proteaz inhibitörü (SLPI), tükürük içeren çok sayıdaki glandüler sıvıyla ilişkili düşük molekül ağırlıklı bir proteindir. Potansiyel bir inhibitör olmasının yanı sıra antiinflamatuvar, antimikrobiyal etki ve skarsız yara iyileşmesini teşvik etme gibi ağız sağlığını iyileştirmeye yardımcı olan bir dizi özelliğe sahiptir. SLPI önemli bir elastaz inhibitörüdür. Son yıllarda SLPI'nin DOS'da bulunduğu gösterilmiştir.⁴⁶

KATEPSİNLER

Hücrede, lizozomlarda yer alan birçok proteaz grubundan biridir. Katepsinler, aktif bölgelerinde içerdikleri amino asitlere göre serin, sistein ve aspartil katepsinler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Sistein katepsinler B, L, H, S, K, F, V, X, W, O ve C'dir. Serin katepsinler, katepsin G; aspartat katepsinler ise, katepsin D'dir.⁴⁷ Katepsinlerin görevi, lizozomlarda hücre içi ve hücre dışı proteinlerin parçalanmasıdır. Bu enzimler, ekstraselüler matriks ve bazal membran proteinlerini tam olarak parçalamaktadırlar.⁴⁸

Bir sistein katepsin olan katepsin B'nin DOS'da ana üretim yeri makrofajlardır ve DOS'daki katepsin B aktivitesi periodontitte gösterilmiştir. Periodontitisli bireylerde katepsin B'nin DOS konsantrasyonunda artış görülürken, jinjivitisli bireylerde bu enzim konsantrasyonunda önemli bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.⁴⁹ Ayrıca, DOS'daki katepsin B seviyesi, tedaviden önce ve sonraki klinik parametrelerle pozitif ilişkilidir ve periodontal tedaviden sonra azaldığı gösterilmiştir. Aynı zamanda katepsin B seviyesinin, hızlı ataşman kaybı olan periodontal alanlarda, ataşman kaybı olmayan alanlara kıyasla daha yüksek olduğu da bulunmuştur.⁵⁰ Bu açıdan katepsin B, periodontit ve jinjivit ayrımında, tedavi sonuçlarını göstermede ve tedavi planlamasında kullanılabilir, gelecek vadeden bir faktör ve potansiyel bir "chair-side" teşhis belirteci olabilir.⁴

Diğer sistein katepsinlerden katepsin C dipeptidil-peptidaz I olarak bilinir. PMN'ler, makrofajlar ve bunların öncülleri dâhil olmak üzere, çeşitli immün hücrelerde yüksek seviyelerde bulunur.⁵¹ Konak savunmasında bakterilere karşı önemli rol oynar ve insanda proteinaz 3 ve elastaz gibi PMN kökenli serin proteazların aktivatörüdür.⁵² Papillon-Lefèvre sendromlu hastalarda yapılan çalışmalar, katepsin C aktivitesinde %90'dan fazla bir azalma göstermiştir.⁵¹ Katepsin C aktivitesi azalmış hastalarda *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a) eliminasyonunun ve PMN'nin nötralize lökotoksin kapasitesinin de azaldığı gösterilmiştir.⁵³ Prepubertal agresif periodontitte katepsin C genindeki mutasyonlar tanımlanmıştır.⁵⁴⁻⁵⁶ Katepsin C gen varyantları jeneralize agresif periodontitteki artan duyarlılığa katkıda bulunur.⁵⁷ Periodontitli hastalarda DOS'daki katepsin C aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla daha az bulunmuştur.⁵⁸

Katepsin K, kemiklerin yeniden yapılandırılmasında önemli bir rol oynayan, osteoklastlarda sentezlenen bir sistein proteazdır ve kemik rezorpsiyon sürecinde kritik bir öneme sahiptir.⁵⁹ Hücre dışı kemik matriks proteinleri için oldukça güçlü bir parçalayıcıdır. Asidik bir ortamda Tip I kollajen ve osteonektin de dâhil olmak üzere, kemik matriksi proteinlerini etkin bir şekilde yok eden

katepsin K, diğer sistein katepsin ve MMP'lerden daha kuvvetli bir kollajenaz aktivitesine sahiptir.⁶⁰ Kemik matriks yıkım sürecinde, sistein proteaz aktivitesinin yaklaşık %98'ini oluşturur.⁶¹ DOS'daki katepsin K düzeyleri jinjivit ve sağlıklı bireylere göre kronik periodontitisli hastalarda daha yüksektir ve periodontal tedavi sonrasında önemli ölçüde azalma göstermiştir.⁶² Ayrıca, katepsin K aktivitesinin periodontal inflamasyon ve periimplantitiste implant çevresi alveolar kemik yıkımı ile de ilişkisi gösterilmiştir.⁶³ Bu özellikleri katepsin K'yı osteoklastik aktivite için iyi bir belirteç yapmaktadır.⁶⁰

Serin katepsinlerden katepsin G, PMN'lerin azurofilik granüllerinde bulunur. Aynı zamanda kimotripsin benzeri olarak bilinir, çünkü kimotripsin için tipik bir dizi sentetik substratlara etki eder ve benzer inhibitör tarafından inhibe edilir. Hemoglobulin ve fibrinojen, kazein, kollajen ve proteoglikanı hidrolize eder.⁹ Periodontal inflamasyonun şiddetinin artmasıyla, DOS'da katepsin G miktarının artışı gösterilmiştir. Katepsin G periodontal doku yıkımına doğrudan ya da latent nötrofil prokollajenaz (promatriks MMP-8)'in proteolitik aktivasyonu ile dolaylı olarak neden olabilir.⁶⁴

Nötrofillerin azurofilik granüllerinde bulunan aspartat katepsinlerden katepsin D, lizozomal bir endopeptidazdır. ⁵² kDa luk bir proteolitik enzim olarak hücre dışı kısma salgılanır. Diş eti oluşu birleşim epiteli hücreleri ve subepitelyal bağ dokudaki fibroblastlarda lokalizedir. Düşük asidik ortamda (pH 3-7), katepsin D salınımı pepstatin tarafından inhibe edilir, doku yıkım sürecine katkı sağlayan çeşitli enzimlerin aktivasyonu ile indüklenir. Buna rağmen erken inflamasyon yıkım sürecinin bir göstergesi olarak düşünülemez. Protein hidrolizinin ve hücre lizisinin bir belirteci olarak, artmış seviyeleri periodontal doku yıkımının son aşamasını gösterir.⁶⁵ Katepsin D'nin temel görevi, hücre içi ve hücre dışından hücre içine alınan proteinlerin lizozomlarda parçalanmasıdır.^{66,67} İnflamasyon dokuda

yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Periodontal yıkımda DOS'daki seviyesi 10 kat artmıştır.⁹

TRİPSİN BENZERİ ENZİMLER

Çeşitli enzim testleri ile *Treponema denticola*, *Bacteroides (Porphyromonas) jinjival* ve çeşitli *Capnocytophaga* türleri gibi subgingival plak organizmalarının taksonomik taraması sonucu sadece proteolitik aktiviteleri yüksek *P. gingival* ve *T. denticola* gibi periodontopatojenlerin salgıladıkları enzimler ile direkt doku hasarına neden olabilen ve önemli bir virülans faktörü olan, tripsin benzeri bir enzime (TLE) sahip oldukları gösterilmiştir.^{68,69} Bu enzim ile interstisyel ve bazal membran kollajenlerini yıkabilirler. Bakteriler ayrıca, konak proteozomlarının salınımını indükleyerek, dolaylı doku yıkımına da sebep olurlar. *T. denticola*'nın kimotripsin benzeri proteazı MMP-8 ve MMP-9'u aktive eder.⁶⁹ *P. gingival*'in tiol proteinazının aynı zamanda MMP-1, MMP-3 ve MMP-9'u aktive ettiği de gösterilmiştir.⁷⁰

Subgingival plaklardaki tripsin benzeri faaliyetlerin belirlenmesi ciddi periodontal hastalıklarla bağlantılıdır ve bu TLE'leri üreten anaeroplardan uzaklaştırılması beraberinde klinik bir iyileşmeyi getirir.⁷¹ Periodontal hastalık patogenezinde, bu periodontopatojenlerin TLE'lerinin DOS'daki seviyesi, periodontal durumlar hakkında bilgi edinmeye yardımcı olabilir.⁹

SONUÇ

DOS, sulkus veya periodontal cepten elde edilebilen bir eksüdadır ve periodontal hastalık aktivitesinin saptanmasında gelecek vadede bir araç olarak kabul edilebilir. Bu sıvı içeriği seruma benzer; akış miktarı periodontal dokuların iltihabi durumunu gösteren diagnostik ve prognostik bir belirteçdir. DOS'daki konak kaynaklı enzim ve inhibitörlerinin değerlendirilmesi, periodontal hastalık için kişisel riskin belirlenmesinde iyi bir metod olarak düşünülmekte olup, aynı zamanda kişiye özel tedavilerin planlanmasına da katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol* 2005;32(6):57-71.
2. AlRowis R, AlMoharib HS, AlMubarak A, Bhaskardoss J, Preethanath RS, Anil S. Oral fluid-based biomarkers in periodontal disease - part 2. Gingival crevicular fluid. *J Int Oral Health* 2014;6(5):126-35.
3. Buduneli N, Kinane DF. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *J Clin Periodontol* 2011;38(11):85-105.
4. Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol* 2000 2005; 39(1):53-72.
5. Toker H, Marakoglu I, Poyraz O. Effect of meloxicam on gingival crevicular fluid IL 1beta and IL1 receptor antagonist levels in subjects with chronic periodontitis, and its effects on clinical parameters. *Clin Oral Investig* 2006; 10(4):305-10.
6. Pöllänen MT, Salonen JI, Uitto VJ. Structure and function of the tooth-epithelial interface in health and disease. *Periodontol* 2000 2003; 31(1):12-31.
7. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol* 2000 2003;31(1):43-54.
8. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontol* 2000 2004;34(1):109-19.
9. Gupta G. Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator- I: host derived enzymes and tissue breakdown products. *J Med Life* 2012;5(4):390-7.
10. Persson GR, DeRouen TA, Page RC. Relationship between gingival crevicular fluid levels of aspartate aminotransferase and active tissue destruction in treated chronic periodontitis patients. *J Periodontol Res* 1990;25(2):81-7.
11. Oringer RJ, Howell TH, Nevins ML, Reasner DS, Davis GH, Sekler J, et al. Relationship between crevicular aspartate aminotransferase levels and periodontal disease progression. *J Periodontol* 2001;72(1):17-24.
12. Chambers DA, Crawford JM, Mukherjee S, Cohen RL. Aspartate aminotransferase increases in crevicular fluid during experimental periodontitis in beagle dogs. *J Periodontol* 1984;55(9):526-30.
13. Persson GR, DeRouen TA, Page RC. Relationship between levels of aspartate aminotransferase in gingival crevicular fluid and gingival inflammation. *J Periodontol Res* 1990;25(1):17-24.
14. Paolantonio M, Di Placido G, Tumini V, Di Stilio M, Contento A, Spoto G. Aspartate aminotransferase activity in crevicular fluid from dental implants. *J Periodontol* 2000; 71(7):1151-7.
15. Yucekcal-Tuncer B, Uygur C, Firatli E. Gingival crevicular fluid levels of aspartate amino transferase, sulfide ions and N-benzoyl-DL-arginine-2-naphthylamide in diabetic patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2003;30(12):1053-60.
16. Sánchez-Pérez A, Moya-Villaescusa MJ, Caffesse RG. Presence of aspartate aminotransferase in peri-implant crevicular fluid with and without mucositis. *J Oral Implantol* 2012;38(2):115-23.
17. Bezerra AA, Pallos D, Cortelli JR, Saraceni CH, Queiroz C. Evaluation of organic and inorganic compounds in the saliva of patients with chronic periodontal disease. *Rev Odonto Ciênc* 2010;25(3):234-38.
18. Daltaban O, Saygun I, Bal B, Baloş K, Serdar M. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase levels in postmenopausal women: effects of phase I periodontal treatment. *J Periodontol* 2006;77(1):67-72.
19. Ishikawa I, Cimasoni G. Alkaline phosphatase in human gingival fluid and its relation to periodontitis. *Arch Oral Biol* 1970;15(12):1401-4.
20. Binder TA, Goodson JM, Socransky SS. Gingival fluid levels of acid and alkaline phosphatase. *J Periodontol Res* 1987;22(1):14-9.
21. Gibert P, Tramini P, Sieso V, Piva MT. Alkaline phosphatase isozyme activity in serum from patients with chronic periodontitis. *J Periodontol Res* 2003;38(4):362-5.
22. Plagnat D, Giannopoulou C, Carrel A, Bernard JP, Mombelli A, Belsler UC. Elastase, alpha2-macroglobulin and alkaline phosphatase in crevicular fluid from implants with and without periimplantitis. *Clin Oral Implants Res* 2002;13(3):227-33.
23. Paknejad M, Emtiaz S, Khoobyari MM, Gharb MT, Yazdi MT. Analysis of aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase in crevicular fluid from implants with and without peri-implantitis. *Implant Dent* 2006;15(1):62-9.
24. Insoft M, King GJ, Keeling SD. The measurement of acid and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;109(3):287-96.
25. Pushparani DS, Nirmala S. Comparison of acid phosphatase and β D-Glucuronidase enzyme levels in type 2 diabetes mellitus with and without periodontitis. *Int J Sci Eng Rec* 2013;4(1):1164-8.
26. Lamster IB, Kaufman E, Grbic JT, Winston LJ, Singer RE. Beta-glucuronidase activity in saliva: relationship to clinical periodontal parameters. *J Periodontol* 2003;74(3):353-9.
27. Layik M, Yamalik N, Caglayan F, Kiliç K, Etikan I, Eratalay K. Analysis of human gingival tissue and gingival crevicular fluid beta-glucuronidase activity in specific periodontal diseases. *J Periodontol* 2000;71(4):618-24.
28. Marakoğlu İ, Ataoğlu T, Kurtoğlu F, Serpek B. [The effect of nonsteroidal anti-inflammatory drug (Tenoxicam) on beta-glucuronidase and lactate dehydrogenase activity in crevicular fluid from patients with periodontitis.] *Cumhuriyet Dent J* 1998;1(1):1-10.
29. Ramamurthy J, Nd J, Varghese S. Comparison of salivary beta glucuronidase activity in chronic periodontitis patients with and without diabetes mellitus. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(6):19-21.
30. Albandar JM, Kingman A, Lamster IB. Crevicular fluid level of beta-glucuronidase in relation to clinical periodontal parameters and putative periodontal pathogens in early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998;25(8): 630-9.
31. Lamster IB, Pullman JR, Celenti RS, Grbic JT. The effect of tetracycline fiber therapy on beta-glucuronidase and interleukin-1 beta in crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1996;23(9): 816-22.
32. Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med* 2006;38(5):306-21.
33. Ujiie Y, Oida S, Gomi K, Arai T, Fukae M. Neutrophil elastase is involved in the initial destruction of human periodontal ligament. *J Periodontol Res* 2007;42(4):325-30.
34. Ujiie Y, Shimada A, Komatsu K, Gomi K, Oida S, Arai T, et al. Degradation of noncollagenous components by neutrophil elastase reduces the mechanical strength of rat periodontal ligament. *J Periodontol Res* 2008; 43(1):22-31.
35. Gustafsson A, Asman B, Bergström K. Elastase and lactoferrin in gingival crevicular fluid: possible indicators of a granulocyte-associated specific host response. *J Periodontol Res* 1994;29(4):276-82.
36. Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1996;23(12):1127-32.
37. Figueredo CM, Gustafsson A. Activity and inhibition of elastase in GCF. *J Clin Periodontol* 1998;25(7):531-5.

38. Figueredo CM, Areas A, Miranda LA, Fischer RG, Gustafsson A. The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing protease activity in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2004;31(8):615-9.
39. Ito H, Numabe Y, Sekino S, Murakashi E, Iguchi H, Hashimoto S, et al. Evaluation of bleeding on probing and gingival crevicular fluid enzyme activity for detection of periodontally active sites during supportive periodontal therapy. *Odontology* 2014;102(1):50-6.
40. Ohlsson K, Olsson I, Tynelius-Bratthall G. Neutrophil leukocyte collagenase, elastase and serum protease inhibitors in human gingival crevices. *Acta Odontol Scand* 1974;32(1):51-9.
41. Kalsheker NA. Alpha 1-antichymotrypsin. *Int J Biochem Cell Biol* 1996;28(9):961-4.
42. Korkmaz B, Horwitz MS, Jenne DE, Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3, and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases. *Pharmacol Rev* 2010;62(4):726-59.
43. Cox SW, Rodriguez-Gonzalez EM, Booth V, Eley BM. Secretory leukocyte protease inhibitor and its potential interactions with elastase and cathepsin B in gingival crevicular fluid and saliva from patients with chronic periodontitis. *J Periodontol Res* 2006;41(5):477-85.
44. Gettins PG. Serpin structure, mechanism, and function. *Chem Rev* 2002;102(12):4751-804.
45. Ertugrul AS, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan N, Bozoglan A. Evaluation of beta-2 microglobulin and alpha-2 macroglobulin levels in patients with different periodontal diseases. *Aust Dent J* 2013;58(2):170-5.
46. Laugisch O, Schacht M, Guentsch A, Kantyka T, Sroka A, Stennicke HR, et al. Periodontal pathogens affect the level of protease inhibitors in gingival crevicular fluid. *Mol Oral Microbiol* 2012;27(1):45-56.
47. Berdowska I. Cysteine proteases as disease markers. *Clin Chim Acta* 2004;342(1-2):41-69.
48. Skrzydlewska E, Sulkowska M, Koda M, Sulkowski S. Proteolytic-antiproteolytic balance and its regulation in carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2005;11(9):1251-66.
49. Kunitatsu K, Yamamoto K, Ichimaru E, Kato Y, Kato I. Cathepsins B, H and L activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients and experimental gingivitis subjects. *J Periodontol Res* 1990;25(2):69-73.
50. Chen HY, Cox SW, Eley BM. Cathepsin B, alpha2-macroglobulin and cystatin levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1998;25(1):34-41.
51. Khan FY, Jan SM, Mushtaq M. Papillon-Lefèvre syndrome: case report and review of the literature. *J Indian Soc Periodontol* 2012;16(2):261-5.
52. de Haar SF, Jansen DC, Schoenmaker T, De Vree H, Everts V, Beertsen W. Loss-of-function mutations in cathepsin C in two families with Papillon-Lefèvre syndrome are associated with deficiency of serine proteinases in PMNs. *Hum Mutat* 2004;23(5):520-4.
53. de Haar SF, Hiemstra PS, van Steenberg MT, Everts V, Beertsen W. Role of polymorphonuclear leukocyte-derived serine proteinases in defense against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 2006;74(9):5284-91.
54. Hart PS, Zhang Y, Firatli E, Uygur C, Loftazar M, Michalec MD, et al. Identification of cathepsin C mutations in ethnically diverse papillon-Lefèvre syndrome patients. *J Med Genet* 2000;37(12):927-32.
55. Hewitt C, McCormick D, Linden G, Turk D, Stern I, Wallace I, et al. The role of cathepsin C in Papillon-Lefèvre syndrome, prepubertal periodontitis, and aggressive periodontitis. *Hum Mutat* 2004;23(3):222-8.
56. Noack B, Görgens H, Hoffmann T, Fanghänel J, Kocher T, Eickholz P, et al. Novel mutations in the cathepsin C gene in patients with prepubertal aggressive periodontitis and Papillon-Lefèvre syndrome. *J Dent Res* 2004;83(5):368-70.
57. Noack B, Görgens H, Hempel U, Fanghänel J, Hoffmann T, Ziegler A, et al. Cathepsin C gene variants in aggressive periodontitis. *J Dent Res* 2008;87(10):958-63.
58. Soell M, Elkaim R, Tenenbaum H. Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Dent Res* 2002;81(3):174-8.
59. Garner P, Borel O, Byrjalsen I, Ferreras M, Drake FH, McQueney MS, et al. The collagenolytic activity of cathepsin K is unique among mammalian proteinases. *J Biol Chem* 1998;273(48):32347-52.
60. Yamalik N, Günday S, Uysal S, Kilinç K, Karabulut E, Tözüm TF. Analysis of cathepsin-K activity at tooth and dental implant sites and the potential of this enzyme in reflecting alveolar bone loss. *J Periodontol* 2012;83(4):498-505.
61. Lecaille F, Brömme D, Lalmanach G. Biochemical properties and regulation of cathepsin K activity. *Biochimie* 2008;90(2):208-26.
62. Garg G, Pradeep AR, Thorat MK. Effect of nonsurgical periodontal therapy on crevicular fluid levels of Cathepsin K in periodontitis. *Arch Oral Biol* 2009;54(11):1046-51.
63. Yamalik N, Günday S, Kilinc K, Karabulut E, Berker E, Tözüm TF. Analysis of cathepsin-K levels in biologic fluids from healthy or diseased natural teeth and dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26(5):991-7.
64. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004;343(1-2):1-16.
65. Buchmann R, Hasilik A, Nunn ME, Van Dyke TE, Lange DE. PMN responses in chronic periodontal disease: evaluation by gingival crevicular fluid enzymes and elastase-alpha-1-proteinase inhibitor complex. *J Clin Periodontol* 2002;29(6):563-72.
66. Vetvicka V, Benes P, Fusek M. Procathepsin D in breast cancer: what do we know? Effects of ribozymes and other inhibitors. *Cancer Gene Therapy* 2002;9(10):854-63.
67. Dingle JT, Poole AR, Lazarus GS, Barrett AJ. Immunoinhibition of intracellular protein digestion in macrophages. *J Exp Med* 1973;137(5):1124-41.
68. Loesche WJ, Syed SA, Stoll J. Trypsin-like activity in subgingival plaque. A diagnostic marker for spirochetes and periodontal disease? *J Periodontol* 1987;58(4):266-73.
69. Fenno JC, Hannam PM, Leung WK, Tamura M, Uitto VJ, McBride BC. Cytotoxic effects of the major surface protein and the chymotrypsinlike proteases of *Treponema denticola*. *Infect Immun* 1998;66(5):1869-77.
70. Ding Y, Haapasalo M, Kerosuo E, Lounatmaa K, Kotiranta A, Sorsa T. Release and activation of human neutrophil matrix metallo- and serine proteases during phagocytosis of *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *J Clin Periodontol* 1997;24(1):237-48.
71. Song SE, Choi BK, Kim SN, Yoo YJ, Kim MM, Park SK, et al. Inhibitory effect of procyanidin oligomer from elm cortex on the matrix metalloproteinases and proteases of periodontopathogens. *J Periodontol Res* 2003;38(3):282-9.
72. Buchmann R, Hasilik A, Van Dyke TE, Lange DE. Resolution of crevicular fluid leukocyte activity in patients treated for aggressive periodontal disease. *J Periodontol* 2002;73(9):995-1002.
73. Kunitatsu K, Mine N, Muraoka Y, Kato I, Hase T, Aoki Y, et al. Identification and possible function of cathepsin G in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients and from experimental gingivitis subjects. *J Periodontol Res* 1995;30(1):51-7.