

THE EFFECTS OF ALPHA-TOCOPHEROL ON SERUM IL-1 β , IL-4 AND IL-6 LEVELS OF RATS WITH EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AND TYPE I DIABETES[#]

TİP I DİYABET OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL PERİODONTİTİSLİ SIÇANLARDA ALFA-TOKOFEROL'UN SERUM IL-1 β , IL-4 VE IL-6 DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Uzm. Dr.Mükerrem HATİPOĞLU* Prof. Dr.Nilgün Özlem ALPTEKİN**
Prof. Dr.Seyfullah HALİLOĞLU***

Makale Kodu/Article code: 1097
Makale Gönderilme tarihi: 21.02.2013
Kabul Tarihi: 29.05.2013

ÖZET

Amaç: Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar periodontal hastalığın diyabeti etkileyebileceğini göstermiştir, diğer taraftan periodontitis diyabetin komplikasyonlarından birisidir. Bu çalışmanın hedefi, deneysel periodontitis ve streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan/ oluşturulmayan sıçanlarda α -tokoferol uygulamasının serum sitokin düzeyleri üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Toplam kırk adet erkek Sprague Dawley sıçana anestezi uygulandı ve mandibular sağ birinci molar dişlere subgingival olarak 3/0 ipek suture bağlandı. Bu hayvanlar, sağlıklı grup (Grup I) ve tek seferde 50mg/kg STZ enjekte edilen diyabetik grup (Grup II) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Bu gruplarda serum fizyolojik (Grup IA, Grup IIA) ve α -tokoferol (40mg/kg/gün) enjekte edilen alt gruplara (Grup IB, Grup IIB) ayrıldı. Ligatür bağlandıktan 21 gün sonra sıçanlar kurban edildi. Aynı zaman aralığında serum IL-1 β , IL-4 ve IL-6 konsantrasyonlarının (pg/ml) ticari ELISA kitleri kullanılarak ölçülebilmesi için kan örnekleri alındı. İstatistiksel kıyaslamalar için iki-yönlü varyans analizi kullanıldı $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi kabul edildi.

Bulgular: Verilerin analizi sonunda, gruplar arasında serum IL-1 β , IL-4 ve IL-6 konsantrasyonları istatistiksel olarak farklı bulunmadı ($p > 0.05$).

Sonuçlar: Elde edilen sonuçlara göre α -tokoferol'ün deneysel periodontitisli, STZ ile diyabet oluşturulmuş/ oluşturulmamış sıçanlarda serum IL-1 β , IL-4 ve IL-6 konsantrasyonlarını değiştirmediği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Sitokin, α -tokoferol, diyabet, deneysel periodontitis.

ABSTRACT

Background: Epidemiologic and clinical studies have indicated that periodontal disease may affect diabetes. On the other hand periodontitis is one of the complications of diabetes. The goal of this study was to investigate the effects of α -tocopherol administration on serum cytokine concentrations in rats with experimental periodontitis with/without streptozotocin (STZ)-induced diabetes.

Methods: Totally forty male Sprague Dawley rats were anesthetized, and 3/0 silk sutures were placed at the subgingival level of the mandibular right first molars. These animals were divided into two groups: Healty group (Group I) and diabetic group by single injection of 50mg/kg STZ(Group II). These groups divided into two subgroups; twenty rats were saline group (Group IA, Group IIA) and other twenty rats (Group IB, Group IIB) were α -tocopherol (40mg/kg/day) group. The animals were sacrificed 21 days after ligature placement. At these time period, blood samples were taken in order to measure the concentrations(pg/ml) of serum IL-1 β , IL-4 and IL-6 levels by using commercial ELISA kits. Statistical comparisons were performed by using two-way analysis of variance with significance set at $p < 0.05$.

Results: Analysis of datas demonstrated that, no statistically significant differences were found in serum IL-1 β , IL-4 ve IL-6 concentrations between the study groups ($p > 0.05$).

Conclusion: These results indicated that α -tocopherol was not effected the serum cytokine concentrations of rats with experimental periodontitis with/without STZ-induced diabetes.

Key Words: Cytokine, α -tocopherol, diabetes, experimental periodontitis.

*Akdeniz Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji AD,

**Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji AD,

***Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya AD,

(# Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 09202002 proje numarası ile desteklenmiştir. Doktora tez projesinden özetlenmiştir.)



GİRİŞ

Periodontitis, birincil etkeni mikrobiyal dental plak olan birçok unsurun etkilediği "multifaktoriyel" karakterde, bakteriyel etkiler sonucunda dişetinde başlayan iltihabi değişimlerin diş destekleyen dokulara yayılarak alveoler kemikte yıkım, cep derinliği artışı, ataşman kaybı, mobilite ve tedavi edilmezse diş kaybı ile sonuçlanabilen geri dönüşümsüz kronik enflamatuvar bir hastalıktır.¹⁻³ Diyabet ise vücutta çeşitli rahatsızlıklara hatta ölüme yol açabilecek endokrinolojik bir hastalıktır. Dünya nüfusunun yaklaşık %6'sı diyabet hastasıdır ve bu oranın giderek arttığı rapor edilmektedir.⁴ Diyabet gibi endokrin hastalıklar, nötrofil fonksiyonunu etkileyen hastalıkları da içine alan hematolojik problemler, kardiyovasküler hastalıklar, insan immün yetmezlik virüsü "human immunodeficiency virus" enfeksiyonu, osteoporoz, obezite gibi çeşitli sistemik problemlerin periodontal hastalığın seyrini değiştirebileceği belirtilmektedir.³⁻⁸ Özellikle diyabet ve periodontitis arasında çift yönlü bir ilişki olduğu ve tedavilerinin birlikte yapılmasının gerekliliği belirtilmektedir.⁹⁻¹¹ Diyabet ve periodontitis gibi enflamatuvar hastalıklarda, birer enflamatuvar belirteç olan IL-1, IL-4 ve IL-6 düzeylerinde değişiklikler olduğu ve hastalık seyrinde bu düzeylerde farklılıklar olabileceği gözlemlenmektedir.¹²⁻¹⁶ Bu belirteçlerden birisi olan IL-1 pro-enflamatuvar bir sitokindir. Aktive olmuş makrofajlardan, lenfositler tarafından üretilirken aynı zamanda mast hücreleri, fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücreler tarafından mikroorganizmalar, bakteriyel toksinler, kompleman faktörleri veya doku yaralanmasına cevap olarak üretilmektedir ve IL-1 β ve IL-1 α olmak üzere iki aktif formda bulunur.^{3,12,13} İnterlökin-1 β , prostoglandin, kollejenaz ve proteaz üretimini artırarak da periodontal dokuların kaybında etkili olabilir.^{14,15} Sağlıklı ve çeşitli derecelerde enflamasyonu olan bireylerden alınan dişeti biyopsileri incelendiğinde enflamasyon derecesi arttıkça IL-4 miktarının azaldığı, IL-6 ve IL-1 β seviyelerinin arttığı gözlenmiştir.¹⁶ İnterlökin-4, mast hücreleri, bazofiller ve T hücreleri tarafından üretilir ve antijen spesifik B hücrelerinin klonal ekspansiyonunda önemli bir faktördür. İnterlökin-4'ün, B ve T hücre proliferasyonunu uyarmak, CD4+T hücrelerinin Th2 hücrelerine farklılaşmasını sağlamak, hümoral ve kazanılmış immünite ve allerjik cevabın gelişiminde anahtar rol

oynamak gibi birçok biyolojik görevi vardır.^{17,18} Literatürde, IL-4'ün alınan örnek bölgesine göre farklı düzeylerde tespit edildiğini saptayan çalışmalar vardır.¹⁹⁻²¹ İnterlökin-6, immün cevap, akut faz reaksiyonları ve hemaptosis gibi birçok görevi olan "multifonksiyonel" özellik gösteren pro-enflamatuvar bir sitokindir. İnterlökin-6 26-kDa protein olarak da adlandırılmaktadır.^{22,23} İnterlökin-6, makrofajlar, monosit T ve B lenfositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, epitel hücreleri, kemik hücreleri, mast hücreleri, nöron hücreleri, osteoblastlar, langerhans hücreleri, pankreas β hücreleri, dentritik hücreler ve keratinositleri içine alan çok yaygın bir hücre grubu tarafından üretilirler.¹⁷ İnterlökin-6, osteoklast farklılaşmasının uyarırken IL-1 β , TNF- α , lenfotoksin, prostaglandinler ve diğer araşidonik asit metabolitleriyle birlikte kemik yıkımına katkıda bulunur.^{18,24, 25, 26} Oksidatif stres ve serbest radikallerin periodontal dokulardaki zararlı etkilerini azaltmak amacıyla antioksidanların kullanıldığı ve periodontal dokularda olumlu etkileri olabileceği rapor edilmiştir.²⁷⁻²⁹ Çeşitli dokular üzerinde diyabetik komplikasyonların iyileştirilmesinde de fayda sağlayan Vitamin E, insan vücudunda bir antioksidan gibi fonksiyon gören yağda çözünen esansiyel bir vitamindir. Doğada vitamin E aktivitesine sahip sekiz madde bulunmuştur. Bunlar: " α -", " β -", " γ -" ve " δ -" "tokotrienol" ve " α -", " β -", " γ -" ve " δ -" "tokoferol"dür.³⁰⁻³⁴

Bu çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş deneysel periodontitisli sıçanlarda, bölgesel yıkıma bağlı olarak artan sitokin düzeylerinin seruma yansiyabileceği düşüncesinden yola çıkarak, α -tokoferol'ün serum IL-1 β , IL-4 ve IL-6 düzeyleri üzerindeki etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Etik Kurulundan (2008/54) onay almıştır. Çalışmaya aynı merkezden elde edilen 40 erkek Sprague Dawley sıçan (ortalama 300 g) dahil edildi. Sıçanlar aynı merkezde beşerli gruplar halinde ayrı ayrı kafeslere konularak sadece standart sıçan yemi ve su ile beslendi.

Araştırmada kontrol grubunu oluşturmak üzere sıçanların 20'sine deneysel diyabet oluşturulmadı (Grup I). Kalan 20 sıçan da deneysel diyabet oluşturmak üzere ayrıldı (Grup II). Geri dönüşümsüz



deneysel diyabet oluşturmak için 50mg/kg streptozotosin (STZ) (Sigma-Aldrich 1g, USA) intraperitoniyal (IP) olarak enjekte edildi. Enjeksiyondan üç gün sonra sıçanların kuyruklarından kan örneği alınarak plazma glukoz seviyelerinin 300 mg/dl'nin üzerinde olduğu belirlendi ve sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Daha sonra anestezi (Ketamin 30mg/kg IM ve Rompun 5mg/kg IM) altında tüm sıçanların sağ mandibular birinci molar dişlerine 3/0 ipek sütür subgingival olarak yerleştirildi. Her bir grubun (Grup I, Grup II) yarısına 21 gün boyunca her gün günde bir kez serum fizyolojik (%0.9 NaCl) (Grup IA, Grup IIA) ve diğer yarısına α -tokoferol (Sigma-Aldrich T3001, USA) (40 mg/kg) (Grup IB, Grup IIB) IP olarak uygulandı. Araştırmanın sonunda anestezi altında sıçanlardan kardiyak ponksiyon ile 10 cc kan alındı. Alınan kan örnekleri tüplere konuldu (Vacutest, İtalya) ve 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Serum ve plazma kısmı ayrılarak serum örnekleri eppendorf tüplere konuldu ve biyokimyasal analiz yapıncaya kadar -80°C'de saklandı.

Biyokimyasal Analiz

Çalışmada sıçanlardan elde edilen serumlarda IL-1 β , IL-4 ve IL-6 sitokin konsantrasyonları Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Mehmet Serpek Endokrinoloji Laboratuvarı'nda belirlenmiştir.

Serum IL analizleri için sıçanlara spesifik IL-1 β , IL-4 ve IL-6 ELISA ticari kitler (Invitrogen KRC0012 Rat ELISA kit) kullanıldı. Kit içerisinde verilen reaktiflerin yöntemlerine uygun sulandırılmaları yapıldıktan sonra, analizde kullanılacak standartların sulandırılmalarına geçildi. Bu amaçla stok standart yeterli derecede standart tamponu ile çözündürüldükten sonra 2000-31,2 pg/ml arasında 1/2'lik seri dilasyonlarla yedi adet standart hazırlandı.

Analiz için öncelikle serumların çözündürülmesi ve kitin oda ısısına gelmesi sağlanarak bütün plak yuvalarına 100 μ l standart tamponu eklendi. Plaçın uygun yuvalarına 100 μ l standart ve 1/2 oranında standart tamponu sulandırılmış 100 μ l örnek eklenerek oda ısısında üç saat inkübasyona bırakıldılar. İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile dört kez yıkanan plaklara 100 μ l Biotin konjugat verilerek bir saat oda ısısında beklemeye bırakıldılar. Tekrar dört kez yıkanan plaklarda biotin konjugatına bağlanması amacıyla bütün yuvalara 100 μ l streptavidin peroksidaz enzimi verildikten sonra tekrar 30dk inkübasyon ve

dört kez yıkama işlemi uygulandı. Enzimatik reaksiyonun ardından uygun rengi elde edebilmek amacıyla 100 μ l substrat çözeltisi plak yuvalarına verildi. Bu aşamada ışıktan etkilenmesinin önüne geçmek amacıyla plaklar 30 dk karanlıkta beklemeye bırakıldı. Son olarak yuvalara 100 μ l stop solüsyon eklenerek 450nm'de IL düzeylerinin absorbanları ve standartlara göre konsantrasyonları (pg/ml) plak okuyucu "mikroplate reader" (μ Quant BIO-TEC INS. Inc, USA) kullanılarak belirlendi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz "Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 17.0" paket programı ile yapıldı. Çalışmaya dahil edilen gruplar arasındaki farkın değerlendirilmesi için iki yönlü varyans analizi yapıldı. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ önemli olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen toplam 40 sıçandan, bir sıçan Grup IB'den, ikişer sıçan Grup IA ve IIB'den, üç tanesi de Grup IIA'dan kaybedildi ve araştırma 32 sıçanla tamamlandı. Biyokimyasal değerlerden okunamayan örneklerin istatistiksel analizi yapılmadı. İki yönlü varyans analizine göre gruplar arası serum IL-1 β , IL-4, IL-6 (pg/ml) konsantrasyonları benzer bulundu ($p > 0,05$) (Tablo 1, 2, 3, Grafik 1, 2, 3).

Tablo 1. Serum IL-1 β konsantrasyonlarının ortalama (ort), standart sapma (Ss), ortanca, en küçük "minimum" (min) ve en büyük "maksimum" (maks) değerleri.

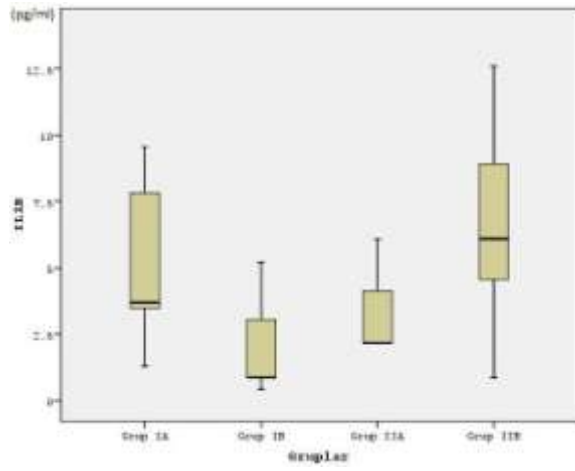
IL-1 β	Grup IA	Grup IB	Grup IIA	Grup IIB
n	6	6	3	8
Ort \pm Ss	4.9 \pm 3.1	1.8 \pm 1.87	3.4 \pm 2.2	6.5 \pm 3.6
Ortanca	3.69	0.87	2.17	6.08
Min-Maks	1.31-9.57	0.44-5.22	2.17-6.09	0.87-12.61

Tablo 2. Serum IL-4 konsantrasyonlarının ortalama (ort), standart sapma (Ss), ortanca, en küçük "minimum" (min) ve en büyük "maksimum" (maks) değerleri.

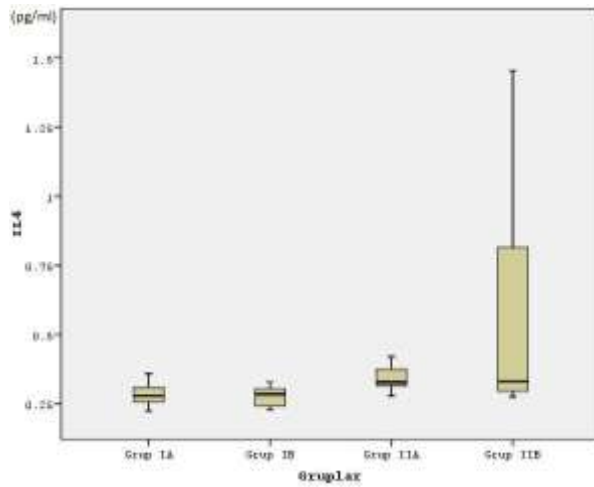
IL-4	Grup IA	Grup IB	Grup IIA	Grup IIB
n	8	9	6	6
Ort \pm Ss	0.2 \pm 0.04	0.2 \pm 0.03	0.36 \pm 0.09	0.49 \pm 0.46
Ortanca	0.27	0.28	0.32	0.3
Min-Maks	0.22-0.36	0.23-0.33	0.28-0.54	0.28-1.45

Tablo 3. Serum IL-6 konsantrasyonlarının ortalama (ort), standart sapma (Ss), ortanca, en küçük "minimum" (min) ve en büyük "maksimum" (maks) değerleri.

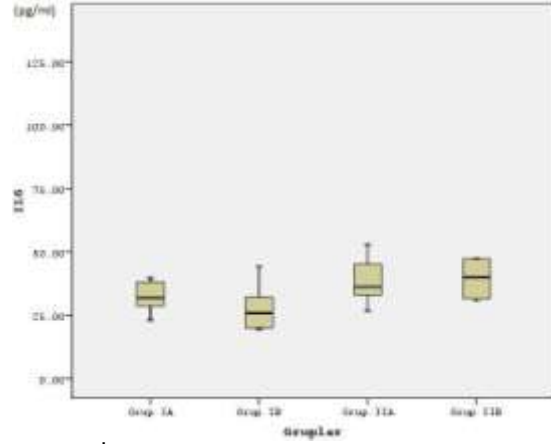
IL-6	Grup IA	Grup IB	Grup IIA	Grup IIB
n	8	9	7	8
Ort± Ss	32.5±5.7	27.2±8.2	50.9±39.1	42.8±14.5
Ortanca	31.87	25.81	36.13	40.04
Min-Maks	23.12-39.73	19.53-44.22	26.7-137.85	30.55-74.68



Grafik 1. İki yönlü varyans analizine göre gruplar arası serum IL-1β (pg/ml) konsantrasyonları benzer bulundu ($p>0,05$).



Grafik 2. İki yönlü varyans analizine göre gruplar arası serum IL-4 (pg/ml) konsantrasyonları benzer bulundu ($p>0,05$).



Grafik 3. İki yönlü varyans analizine göre gruplar arası serum IL-6 (pg/ml) konsantrasyonları benzer bulundu ($p>0,05$).

TARTIŞMA

Sitokinler, hücreler arası etkileşimlerde mesaj iletilici olarak görev yapan, çeşitli hücreler tarafından salgılanabilen, glikoprotein yapıdaki maddelerdir.³⁵ Özellikle dişetinde kollajen yıkımı, periodontal atışman ve alveoler kemik kaybı ile birlikte dişeti ve/veya DOS'ta IL-1β, TNF-α, IL-6 gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde artış görülürken, IL-4 gibi anti-enflamatuvar sitokinlerin seviyelerinde azalma olduğu rapor edilmiştir.^{14,16,20,36,37,38} Ayrıca, periodontal doku yıkımında bölgesel olarak artan sitokin düzeylerinin sistemik olarak dolaşıma geçerek etkisini sürdürebileceği ileri sürülmektedir.^{19,21,39} Periodontitisli hastaların plazma IL-6, serum IL-1β konsantrasyonlarının sağlıklı kontrollerden daha yüksek, plazma IL-4 düzeylerinin ise daha düşük düzeylerde olduğu bulunmuştur.^{19,21,39} Bununla birlikte diyabetin ise nöropati, retinopati, nefropati, kardiyovasküler hastalık, perivasküler değişiklikler gibi komplikasyonlarının yanı sıra periodontitise de neden olabileceği ileri sürülmektedir.^{10,40,41} Enflamatuvar değişimler ile insülin direnci arasında çift yönlü bir ilişki olabileceği gösterilmiştir. Diyabetik nefropatinin kontrol altına alındığı olgularda pro-enflamatuvar bir sitokin olan IL-6'nın serum düzeylerinin azaldığı, ancak hiperglisemik durumlarda IL-6'nın insülin sinyalini bozarak damar endotelinde NO üretimini arttırdığı belirtilmiştir.^{42,43} Literatürde periodontal doku yıkımı ve özellikle dokudaki sitokin dengesinin bozulmasıyla birlikte glukoz toleransının bozulabileceği rapor edilmiştir.⁴⁴⁻⁴⁶ Özellikle hiperglisemiyle birlikte IL-1β'nin

dişeti^{45,47} ve DOS^{44,48,49} düzeylerinde artış veya değişim olmadığı⁵⁰ ve DOS IL-4⁴⁶ seviyesinde azalma veya dişeti IL-4 düzeylerinin değişmediği⁵¹, IL-6'nın dişeti⁵² ve serum⁴⁹ konsantrasyonlarının yükseldiği saptanmıştır. Kontrolsüz diyabeti ve periodontiti olan bireylerde glisemik kontrolün gerçekleşmesiyle birlikte serum IL-6 düzeylerinin azaldığı, ancak serum IL-1 β ve IL-4 seviyelerinde önemli bir değişim olmadığı rapor edilmiştir.⁵³ Bu çalışmada kontrolsüz diyabet ve diyabetsiz deneysel periodontitis oluşturulmuş sıçanların serum IL-1 β , IL-4 ve IL-6 konsantrasyonları değerlendirilmiş ve gruplar arasında önemli fark bulunmamıştır. Araştırma sonunda periodontitis varlığında kontrolsüz diyabetin serum sitokin düzeylerine etkisi bulunmamıştır. Bununla birlikte önemli bir Vitamin E öncüsü olan α -tokoferol'ün sitokinler yoluyla sistemik etkisi ile ilgili çelişkili sonuçlar vardır.⁵⁴⁻⁵⁹ Alfa-tokoferol'ün monosit⁵⁴, serum⁵⁵ ve plazma⁵⁶ IL-1 β ve IL-6 düzeylerine bir etkisinin olmadığını rapor eden çalışmaların yanı sıra, lökosit⁵⁷, beyin hücresi ve serum^{58,59} seviyelerini baskıladığını gösteren çalışmalar da vardır. Literatürde diyabete bağlı dejeneratif değişimlerin tedavisine yardımcı olarak E Vitamini⁶⁰ veya α -tokoferol⁶¹⁻⁶⁴ kullanımına olan ilgi artmıştır. Mol ve ark (1997)'nin araştırmasında sigara içen ve diyabetli bireylerde dört hafta boyunca 600 IU E vitamini uygulamışlar ve tedavinin plazma IL-1 β düzeylerini etkilemediğini, ancak IL-1 reseptör antagonisti ve TNF- α seviyelerini baskıladığını saptamışlardır. Diyabet olan bireylerde yapılan çalışmalarda üç ay boyunca 1200 IU/gün α -tokoferol kullanımının monosit IL-1 β ve IL-6 düzeylerini azalttığı rapor edilmiştir.^{62,63} Diğer taraftan altı hafta boyunca 500mg/gün α -tokoferol alan tip II diyabetik bireylerin plazma TNF- α ve IL-6 düzeylerinde bir fark olmadığı belirtilmiştir.⁶⁴

Sonuç olarak bu çalışmada sıçanlarda streptozotosin ile Tip I diyabet ve deneysel periodontitis oluşturulmuş ve dejeneratif değişimlere bağlı artan sitokin düzeylerinin seruma geçebileceği hipotezinden yola çıkılarak, α -tokoferol'ün bu belirteçler üzerindeki olası etkileri araştırılmıştır. Ancak, çalışma sonunda α -tokoferol kullanımının serum IL-1 β , IL-6 ve IL-4 konsantrasyonları üzerine bir etkisi saptanmamıştır. Deneysel periodontitis oluşturulan kontrol grubunda da α -tokoferol'ün serum sitokin düzeyleri üzerine ilave bir etkisi gözlenmemiştir. Elde edilen bu sonucun ilaç dozu, enjeksiyonlar ve çalışma

süresine bağlı olduğu düşünülmektedir. Ancak, bilgilerimiz dahilinde diyabet ve periodontitise bağlı doku yıkımlarında α -tokoferol'ün serum sitokin seviyeleri üzerine etkisinin değerlendirildiği bir araştırmaya ulaşılamamıştır. Periodontal problem ve diyabet durumunda α -tokoferol kullanımının serum sitokin seviyeleri üzerine etkisinin tam olarak anlaşılabilmesi için gelecekte daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın istatistik analizlerinin hazırlanmasında yardımlarından dolayı Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde görev yapan Prof. Dr. Said BODUR'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Flemmig TF. Periodontitis. Ann Periodontol 1999; 4: 32-7.
2. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. Ann Periodontol 1999; 4: 7-17.
3. Carranza FA, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. Etiology of periodontal disease. In: Clinical Periodontology. Ed. John Dolan. 10th ed. Saunders. Missouri, p: 134-282, 2007.
4. Al Shamsi M, Amin A, Adeghate E. Effect of vitamin C on liver and kidney functions in normal and diabetic rats. Annals New York Academy of Sciences 2006; 1084: 371-90.
5. Seymour RA, Preshaw PM, Thomason JM, Ellis JS, Steele JG: Cardiovascular diseases and periodontology. J Clin Periodontol 2003; 30: 279-92.
6. Heitz-Mayfield LJA. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. J Clin Periodontol 2005; 32: 196-209.
7. Linden G, Patterson C, Evans A, Kee F. Obesity and periodontitis in 60-70-year-old men. J Clin Periodontol 2007; 34: 461-6.
8. Khader YS, Bawadi HA, Haroun TF, Alomari M, Tayyem RF. The association between periodontal disease and obesity among adult in Jordan. J Clin Periodontol 2009; 36: 18-24.
9. Tsai C, Hayes C, Taylor GW. Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in



- the US adult population. *Community Dent Oral Epidemiol* 2002; 30: 182-92.
10. Campus G, Salem A, Uzzau S, Baldoni E, Tonolo G. Diabetes and Periodontal disease: A case-control study. *J Periodontol* 2005; 76: 418-425.
 11. Benguigui C, Bongard V, Ruidavets J-B, Chamontin B, Sixou M, FerriEres J, Amar J. Metabolic syndrome, insulin resistance and periodontitis: a cross-sectional study in a middle-aged French population. *J Clin Periodontol* 2010; 37: 601-8.
 12. Lo Y-J, Liu C-M, Wong M-Y, Hou L-T, Chang W-K. Interleukin 1 β -secreting cells in inflamed gingival tissue of adult periodontitis patients. *Cytokine* 1999; 11: 626-33.
 13. Arend WP, Palmer G, Gabay C. IL-1, IL-18, and IL-33 families of cytokines. *Immunological Reviews*. 2008; 223: 20-38.
 14. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Prostack L, Haffajee AD, Socransky SS: Levels of interleukin 1 β in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1991a; 18: 548-54.
 15. Hirose M, Ishihara K, Saito A, Nakagawa T, Yamada S, Okuda K. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol* 2001; 72: 590-7.
 16. Ejeil A-L, Gaultier F, Igondjo-Tchen S, Seni K, Pellat B, Gordeau G, Gogly B. Are cytokines linked to collagen breakdown during periodontal disease progression. *J Periodontol* 2003;74:196-201.
 17. Dennison DK, Van Dyke TE. The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontology* 2000 1997; 14: 54-78.
 18. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology* 2000 1997; 14: 112-43.
 19. Górska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliński K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 1046-52.
 20. Bastos MF, Lima JA, Vieira PM, Mestnik MJ, Faveri M, Duarte PM. TNF- α and IL-4 levels in generalized aggressive periodontitis subjects. *Oral Diseases* 2009; 15: 82-7.
 21. Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Klinge B, Gustafsson A. Risk factors for atherosclerosis in cases with severe periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009; 36: 541-9.
 22. Thomson A. *The cytokine handbook*. Third edition, California, Academic Press, 1998: 35-227.
 23. Hedayat M, Mahmoudi MJ, Rose NR, Rezaei N. Proinflammatory cytokines in heart failure: double-edged swords. *Heart Fail Rev*. 2010; 1007: 1-20.
 24. Franchimont N, Rydzien S, Canalis E. Interleukin 6 is autoregulated by transcriptional mechanisms in cultures of rat osteoblastic cells. *J Clin Invest*. 1997; 100: 1797-803.
 25. Schwartz Z, Goultchin J, Dean DD, Boyan BD. Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontology* 2000. 1997;14: 58-172.
 26. Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T. The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Res* 2002; 4: 233-42.
 27. Di Paola R, Mazzon E, Zito D, Maiere D, Britti D, Genovese T, Cuzzocrea S. Effects of Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, in a rodent model periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 1062-8.
 28. Neiva RF, Al-Shammari K, Nociti Jr FH, Soehren S, Wang H-L. Effects of vitamin-B complex supplementation on periodontal wound healing. *J Periodontol* 2005; 76: 1084-91.
 29. Tomofuji T, Ekuni D, Irie K, Azuma T, Endo Y, Tamaki N, Sanbe T, Murakami J, Yamamoto T, Morita M. Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J Periodontol* 2009; 80: 1799-808.
 30. Sen CK, Khanna S, Roy S. Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sciences* 2006; 78: 2088-98.
 31. Bursell S-E, Clermont AC, Aiello LP, Aiello LM, Schlossman DK, Feener EP, Laffel L, King GL. High-Dose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and C reatinine clearance in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 1245-51.
 32. Wan Nazaimoon WM, Khalid BAK. Tocotrienols-rich diet decreases advanced glycosylation endproducts in non-diabetic rats and improves glycemic control in streptozotocin-induced diabetic rats. *Malaysian J Pathol* 2002; 24: 77-82.



33. Pekiner BD, Evcimen ND, Uluşu NN, Bali M, Karasu Ç. Effects of vitamin E on microsomal Ca²⁺-ATPase activity and calcium levels in streptozotocin-induced diabetic rat kidney. *Cell Biochem Funct* 2003; 21: 177-82.
34. Manning PJ, Sutherland WHF, Walker RJ, Williams SM, Jong SA, Ryalls AR, Berry EA. Effect of high-dose vitamin E on insulin resistance and associated parameters in overweight subject. *Diabetes Care* 2004; 27: 2166-71.
35. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000; 118; 503-8.
36. Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS. Tissue Levels of Bone Resorptive Cytokines in Periodontal Disease. *J Periodontol* 1991; 62: 504-9.
37. Dongari-Bagtzoglou AI, Ebersole JL. Increased presence of interleukin-6 (IL-6) and IL-8 secreting fibroblast subpopulations in adult periodontitis. *J Periodontol* 1998; 69: 899-910.
38. Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol* 2003; 30:145-53.
39. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Paulien ME, van Dillen W, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 2000;71: 1528-34.
40. Borrell LN, Papapanou PN. Analytical epidemiology of periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 132-58.
41. King GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J Periodontol* 2008; 79: 1527-34.
42. Choudhary N, Ahlawat RS. Interleukin-6 and C-Reactive protein in pathogenesis of diabetic nephropathy new evidence linking inflammation, glycemic control, and microalbuminuria. *IJKD*. 2008; 2: 72-9.
43. Andreozzi F, Laratta E, Procopio C, Hribal MA, Sciacqua A, Perticone M, Miele C, Perticone F, Sesti G. Interleukin-6 impairs the insulin signaling pathway, promoting production of nitric oxide in human umbilical vein endothelial cells. *Molecular and Cellular Biology* 2007; 27: 2372-83.
44. Engebretson SP, Hey-Hadavi J, Ehrhardt FJ, Hsu D, Celenti RS, Grbic JT, Lamster IB. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1 β and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Periodontol* 2004; 75: 1203-8.
45. Andersen CCP, Buschard K, Flyvbjerg A, Stoltze K, Holmstrup P. Periodontitis deteriorates metabolic control in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *J Periodontol* 2006; 77: 350-6.
46. Santos VR, Ribeiro FV, Lima JA, Napimoga MH, Bastos MF, Duarte PM: Cytokine levels in sites of chronic periodontitis of poorly controlled and well-controlled type 2 diabetic subjects. *J Clin Periodontol* 2010; 37: 1049-58.
47. Doxey DL, Cutler CW, Iacopino AM. Diabetes prevents periodontitis-induced increases in gingival platelet derived growth factor-B and interleukin 1-Beta in a rat model, *J Periodontol* 1998, 69, 113-9.
48. Salvi GE, Franco LM, Braun TM, Lee A, Rutger Persson G, Lang NP, Giannobile WV. Pro-inflammatory biomarkers during experimental gingivitis in patients with type 1 diabetes mellitus: a proof-of-concept study. *J Clin Periodontol* 2010; 37: 9-16.
49. Andriankaja OM, Barros SP, Moss K, Panagakos FS, DeVizio W, J. Beck J, Offenbacher S. Levels of serum interleukin (IL-6) and gingival crevicular fluid of IL-1 β and prostaglandin E2 among non-smoking subjects with gingivitis and Type 2 diabetes. *J Periodontol* 2009; 80: 307-16.
50. Correa FOB, Gonçalves D, Figueredo CMS, Gustafsson A, Orrico SRP. The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing levels of interleukin-1 β and proteases in gingival crevicular fluid from patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis. *J Periodontol* 2008; 79: 2143-50.
51. Shin D-S, Park J-W, Suh J-Y, Lee J-M. The expressions of inflammatory factors and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 in human chronic periodontitis with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontal Implant Sci* 2010; 40:33-8.
52. Venza I, Visalli M, Cucinotta M, De Grazia G, Teti D, Venza M. Proinflammatory gene expression at chronic periodontitis and peri-implantitis sites in patients with or without Type 2 diabetes. *J Periodontol* 2010; 81: 99-108.
53. O'Connell PAA, Taba M Jr, Nomizo A, Freitas MCF, Suaid FA, Uyemura SA, Trevisan GL, Novaes AB Jr,



- Souza SLS, Palioto DB, Grisi MFM. Effects of Periodontal therapy on glycemic control and inflammatory markers. *J Periodontol* 2008; 79:774-83.
54. Vega-Lopez S, Kaul N, Devaraj S, Cai RY, German B, Jialal I. Supplementation with ω 3 polyunsaturated fatty acids and all-rac alpha-tocopherol alone and in combination failed to exert an anti-inflammatory effect in human volunteers. *Metabolism* 2004; 53: 236-40.
55. Norazlina M, Lee PL, Lukman HI, Nazrun AS, Ima-Nirwana S. Effects of vitamin E supplementation on bone metabolism in nicotine-treated rats. *Singapore Med J* 2007; 48: 195-9.
56. Devaraj S, Leonard S, Traber MG, Jialal I. Gamma-tocopherol supplementation alone and in combination with alpha-tocopherol alters biomarkers of oxidative stress and inflammation in subjects with metabolic syndrome. *Free Radical Biology & Medicine* 2008; 44: 1203-8.
57. Tits LJ, Demacker PN, Graaf J, Hak-Lemmers HL, Stalenhoef AF. α -Tocopherol supplementation decreases production of superoxide and cytokines by leukocytes ex vivo in both normolipidemic and hypertriglyceridemic individuals. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 458-64.
58. Godbout JP, Berg BM, Kelley KW, Johnson RW. α -Tocopherol reduces lipopolysaccharide-induced peroxide radical formation and interleukin-6 secretion in primary murine microglia and in brain. *Journal of Neuroimmunology* 2004; 149: 101-9.
59. Godbout JP, Berg BM, Krzyszton C, Johnson RW. α -Tocopherol attenuates NF κ B activation and pro-inflammatory cytokine production in brain and improves recovery from lipopolysaccharide-induced sickness behavior. *Journal of Neuroimmunology* 2005; 169: 97-105.
60. Mol MJTM, de Rijke YB, Demacker PNM, Stalenhoef AFH. Plasma levels of lipid and cholesterol oxidation products and cytokines in diabetes mellitus and cigarette smoking: effects of vitamin E treatment. *Atherosclerosis* 1997; 129: 169-76.
61. Devaraj S, Jialal I. α -tocopherol decreases interleukin-1 β release from activated human monocytes by inhibition of 5-lipoxygenase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1125-33.
62. Devaraj S, Jialal I. Low-density lipoprotein postsecretory modification, monocyte function, and circulating adhesion molecules in Type 2 diabetic patients with and without macrovascular complications. The effect of α -tocopherol supplementation. *Circulation* 2000;102: 191-6.
63. Devaraj S, Jialal I. Alpha tocopherol supplementation decreases serum c-reactive protein and monocyte interleukin-6 levels in normal volunteers and type 2 diabetic patients. *Free Radical Biology & Medicine* 2000; 29: 790-2.
64. Wu JHY, Ward NC, Indrawan AP, Almeida C-A, Hodgson JM, Proudfoot JM, Puddey IB, Croft KD. Effects of α -tocopherol and mixed tocopherol supplementation on markers of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes. *Clinical Chemistry* 2007; 53: 511-9.

Yazışma Adresi:

Uzm. Dr. Mükerrrem HATİPOĞLU.
Akdeniz Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı
Kampüs/Antalya.
e-posta: mukerremhatipoglu@hotmail.com

