

Liisa Valtonen

SYLJEN SYTOKIINIMÄÄRÄN JA LIHAVUUDEN VÄLINEN YHTEYS

Syventävien opintojen kirjallinen työ
Kevätlukukausi 2015

Liisa Valtonen

SYLJEN SYTOKIINIMÄÄRÄN JA LIHAVUUDEN VÄLINEN YHTEYS

Hammaslääketieteen laitos

Kevätlukukausi 2015

Vastuhenkilö: Ulvi Gürsoy

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Syljen sytokiinimäärän ja lihavuuden välinen yhteys

Lihavuus on maailmanlaajuisesti lisääntyvä ongelma, johon kuolee vuosittain noin 3,4 miljoonaa aikuista. Energian varastoinnin lisäksi valkoisen rasvakudoksen on havaittu tuottavan monia erilaisia biologisesti aktiivisia molekyylejä. Tällaisia molekyylejä ovat esimerkiksi proinflammatoriset sytokiinit interleukiini (IL)-1 β , IL-6 ja tuumorinekroositekijä (TNF)- α , joiden pitoisuudet ovat korkeammat lihavien ihmisten seerumissa. Lihavien ihmisten elimistössä vallitsee matala-asteinen krooninen tulehdus, joka havaitaan kohonneena CRP-pitoisuutena.

Parodontaalisairaudet ovat joukko infektioperäisiä sairauksia, jotka vahingoittavat hampaan kiinnityskudoksia. Vaikka parodontiitin etiologisenä tekijänä ovatkin bakteerit, proinflammatorisilla sytokiineilla, kuten IL-1 β :lla, IL-6:lla ja TNF- α :lla, on rooli hampaan kiinnityskudosten tuhoutumisessa. Lihavuuden on ajateltu olevan yhteydessä parodontiitin syntyyn seerumin lisääntyneen sytokiinipitoisuuden ja matala-asteisen tulehduksen vuoksi. Lihavuuden ja parodontiitin välille on ehdotettu monia yhdistäviä tekijöitä, kuten oksidatiivinen stressi, suun mikrobit ja insuliiniresistenssi.

Tutkielman teoriaosiossa käsiteltiin parodontiittia ja lihavuutta sekä mekanismeja, joilla lihavuus voisi edistää parodontiitin syntyä. Kokeellisessa osiossa tutkittiin DILGOM-tutkimuksesta peräisin olevien sylkinäytteiden proinflammatoristen sytokiinien IL-1 β :n, IL-6:n, IL-8:n ja TNF- α :n ja anti-inflammatoristen sytokiinien IL-1ra:n ja IL-10:n määrän välistä yhteyttä painoindeksiin (BMI). Tutkimusmenetelmänä käytettiin virtausytometriaan perustuvaa Luminex® xMAP™ -teknologiaa.

Tutkimustulosten perusteella IL-1 β - ja IL-8-pitoisuudet ovat korkeammat lihavien henkilöiden sylkinäytteissä verrattuna normaalipainoisiin. IL-10-pitoisuudet taas ovat korkeammat normaalipainoisten henkilöiden sylkinäytteissä. IL-1 β -, IL-8- ja IL-10-pitoisuudet korreloivat BMI:n nousuun. Loppupäätelmä on, että korkea BMI aktivoi suun tulehdistilaa ja tupakointi lisää riskiä tulehdukselle.

Asiasanat

Lihavuus
Parodontiitti
Sylki
Sytokiini

SISÄLLYS

KIRJALLISUUSKATSAUS	1
JOHDANTO	1
1 HAMPAAN KIINNITYSKUDOSSAIRAUDET	1
1.1 Hampaan kiinnityskudossairauksien määritelmä	1
1.2 Parodontiitin riskitekijät	3
1.3 Parodontiitin patogeneesi	4
2 LIHAVUUS	5
2.1 Ylipainon ja lihavuuden määritelmät	5
2.2 Valkoinen rasvakudos	5
2.3 Lihavuus ja tulehdus	7
3 LIHAVUUS JA PARODONTIITTI	7
3.1 Suun mikrobit	8
3.2 Tulehdusvaste	8
3.3 Lisääntynyt oksidatiivinen stressi	8
3.4 Insuliiniresistenssi	9
4 SYLKI	9
4.1 Syljen koostumus ja merkitys suussa	9
4.2 Sylki diagnostisena materiaalina	9
5 SYTOKIINIT	10
5.1 Parodontiitin patogeneesin kannalta olennaiset sytokiinit	10
5.2 Interleukiini-1 β	10
5.3 Interleukiini-1 -reseptorin antagonisti	10
5.4 Interleukiini-6	11
5.5 Interleukiini-8	11
5.6 Interleukiini-10	11
5.7 Tuumorinekroositekijä- α	11
TUTKIMUSOSIO	12
6 AINEISTO JA MENETELMÄT	12
6.1 DILGOM-tutkimus	12
6.2 Luminex-teknologia	12
6.3 Sytokiinien määrittäminen syljestä	14
6.4 Tilastollinen analyysi	14
7 TULOKSET	14

8 YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET

19

9 LÄHTEET

20

JOHDANTO

Ylipainon ja lihavuuden esiintyvyys on lisääntynyt jatkuvasti ja ongelma aiheuttaa huolta maailmanlaajuisesti. Aikuinen määritellään ylipainoiseksi, jos hänen painoindeksinsä (BMI) on suurempi tai yhtä suuri kuin 25 kg/m^2 . Lihavilla ihmisillä BMI on suurempi tai yhtä suuri kuin 30 kg/m^2 . Ylipainoisilla ja lihavilla henkilöillä elimistöön kertyy ylimäärin rasvakudosta, joka saattaa johtaa terveyden vaarantumiseen. Lihavuus saa aikaan elimistössä matala-asteiseen tulehduksen, jonka on havaittu altistavan erilaisille kroonisille sairauksille, kuten sydän- ja verisuonisairauksille ja diabetekselle. Lihavuuteen liittyvä matala-asteinen tulehdus saattaa altistaa myös parodontiitille. (Suvan ym. 2011, WHO 2014.)

Parodontiitti on krooninen tulehduksellinen sairaus, joka vaikuttaa hampaiden kiinnityskudoksiin ja voi johtaa hampaiden menetykseen. Se on seurausta patogeenisten bakteerien ja immuunipuolustuksen vuorovaikutuksesta. (Dentino ym. 2013.) Parodontiitin syntyyn johtavat mekanismit eivät ole vielä täysin selvillä ja monien tekijöiden on oletettu edistävän parodontiitin syntyä. Tällaisia tekijöitä ovat esimerkiksi tupakointi ja diabetes. Lihavilla henkilöillä esiintyvällä lisääntyneellä proinflammatoristen sytokiinien erityksellä on myös ajateltu vaikuttavan parodontiitin syntyyn. (Boesing ym. 2009.)

Lihavuuden ja parodontiitin yhteyttä on tutkittu useissa poikkileikkaustutkimuksissa (Suvan ym. 2011) ja useita eri tapoja, joilla lihavuus voisi edistää parodontiitin syntyä, on ehdotettu (Ritchie 2007). Tarkka mekanismi, jolla lihavuus vaikuttaa parodontiitin syntyyn, on kuitenkin edelleen epäselvä.

Tutkielman kirjallisuusosiossa käydään läpi lihavuuden vaikutusta elimistöön ja sen mahdollisia tapoja edistää parodontiitin syntyä. Tutkimusosiossa selvitettiin parodontaalisen tulehduksen yhteyttä lihavuuteen määrittämällä normaalipainoisten ja lihavien henkilöiden syljen sytokiinimääriä ja vertaamalla niitä painoindeksiin.

1 HAMPAAN KIINNITYSKUDOSSAIRAUDET

1.1 Hampaan kiinnityskudossairauksien määritelmä

Hampaan kiinnityskudokset koostuvat ikenestä, parodontaaliligamentista, juurisementistä ja alveolaariluusta. Hampaan kiinnityskudossairaudet ovat joukko sairauksia, jotka johtuvat

ientaskussa olevien bakteerien aiheuttamasta tulehduksesta ympäröivässä kudoksessa. (Dentino ym. 2013.) Tällä hetkellä käytössä oleva hampaan kiinnityskudossairauksien luokittelu tehtiin vuonna 1999 (Taulukko 1). Tässä luokittelussa krooninen ja aggressiivinen parodontiitti korvasivat aikuis- ja lapsuusiässä alkavan parodontiitin. (Armitage 1999.)

Taulukko 1. Hampaan kiinnityskudossairauksien luokittelu.

1. Iensairaudet	5. Nekrotisoivat parodontaalisairaudet
2. Krooninen parodontiitti	6. Parodontaaliabsessit
3. Aggressiivinen parodontiitti	7. Endodonttiseen leesioon liittyvä parodontiitti
4. Systeemisairauksiin liittyvä parodontiitti	8. Kehitykselliset ja hankitut epämuodostumat ja tilat

Hampaan kiinnityskudossairauksien pääasiallinen etiologinen tekijä on hammasplakki, joka koostuu monimutkaisesta bakteeribiofilmistä. Hammasplakki koostuu useista eri bakteerilajeista. Tutkimuksessa suun biofilmissä on havaittu ainakin 700 eri bakteerilajia. (Aas ym. 2005.) Subgingivaalinen plakki syventyneissä ientaskuissa koostuu pääasiassa gram-negatiivisista anaerobisista sauvoista ja spirookeetoista. Parodontiitin syntyyn liitettyjä bakteereja ovat *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus*, ja *Parvimonas micra*. (Moore ja Moore 1994, Berezow ja Darveau 2011.)

Gingiviitti on marginaalisen ikenen tulehdus, jossa voidaan havaita kliinisesti muutoksia ikenen värissä, muodossa ja verenvuodossa. Gingiviitin aiheuttamat muutokset ovat palautuvia ja gingiviitti parantuu täysin, kun suuhygienia saadaan riittävän hyvälle tasolle. (Dentino ym. 2013.)

Parodontiittissa tulehdus ulottuu syvemmälle kuin marginaaliseen ikeneen. Parodontiitti aiheuttaa palautumattomia muutoksia hampaan kiinnityskudoksille. Tällaisia muutoksia ovat hammasta leukaluuhun kiinnittävien kollageenisäikeiden ja alveolaariluun tuhoutuminen. Parodontiitille tunnusomaisia merkkejä ovat syventyneet ientaskut, luukato ja liikkuvuus hampaissa. Hoitamattomana parodontiitti johtaa hampaan menetykseen. (Cochran 2008.)

1.2 Parodontiitin riskitekijät

Vaikka parodontiitin pääasiallinen etiologinen tekijä on plakki, yksilötasolla parodontiitin syntyyn vaikuttavat monet tekijät. Tällaisia tekijöitä ovat esimerkiksi tupakointi, diabetes, geneettiset tekijät, stressi, osteoporoosi ja lihavuus (Genco ja Borgnakke 2013.) Lihavuutta parodontiitin riskitekijänä käsitellään tarkemmin kappaleessa 3.

Tupakointi on merkittävä parodontiitin riskitekijä (Bergström ja Preber 1994). Tupakointi vaikuttaa hampaan kiinnityskudoksiin monin eri tavoin. Se muuttaa biofilmin koostumusta, heikentää verenkiertoa ikenissä, muuttaa neutrofiilien toimintaa ja vaikuttaa sytokiinien tuottoon. (Heasman ym. 2006.) Parodontiittia sairastavilla tupakoitsijoilla esiintyy vähemmän kliinisiä tulehduksen merkkejä ja ienverenvuotoa, jonka vuoksi parodontiittia on vaikeampi havaita (Bergström 1990.)

Diabetes on sairaus, joka aiheuttaa elimistöön hyperglykemiaa. Epänormaali sokeriaineenvaihdunta johtuu joko puutteesta insuliinin toiminnassa tai tuotossa. Hyperglykemia johtaa lisääntyneeseen tulehdusvasteeseen hampaan kiinnityskudoksissa. (Brownlee 2005.) Diabetesta sairastavilla henkilöillä esiintyy enemmän parodontiittia ja myös heidän parodontiittinsa taudinkuva on vaikeampi (Grossi ym. 1995). Potilaat, joilla diabetes on hyvässä hoitotasapainossa, eivät saa parodontiittia yhtä helposti ja he reagoivat paremmin hoitoon (Cutler ym. 1999).

Geneettiset tekijät vaikuttavat erityisesti aggressiivisen parodontiitin syntyyn (Meng ym. 2011).

Stressi vaikuttaa immuunipuolustukseen ja lisää epäterveellisiä elämäntapoja. Stressi voi johtaa immunosuppressiiviseen tilaan, joka voi edistää hampaan kiinnityskudosten tuhoutumista. (Genco ja Borgnakke 2013.)

Osteoporoosi vähentää luun mineralisaatioastetta, joka johtaa suurentuneeseen murtumarisktiin. Osteoporoosin ja parodontiitin välinen yhteys on edelleen epäselvä, vaikka monissa tutkimuksissa osteoporoosin osoitettiin olevan riskitekijä parodontiitille. (Martinez-Maestre ym. 2010.)

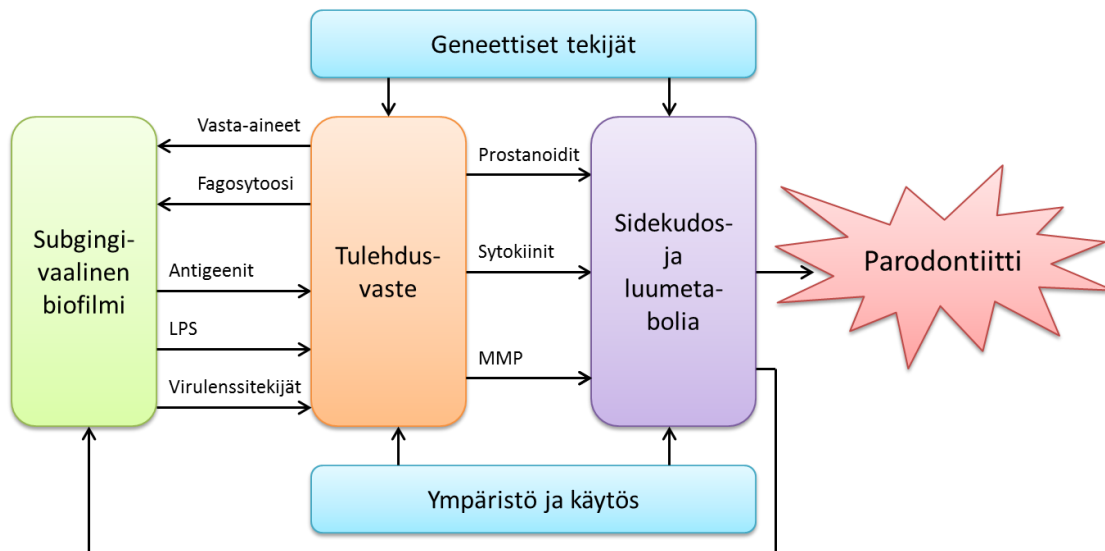
1.3 Parodontiitin patogeneesi

Parodontiitti saa alkunsa bakteeribiofilmin kertymisestä ienrajaan ja ikenen alle, mikä aiheuttaa kroonisen tulehdusreaktion. Tulehduksen edetessä elimistö yrittää kontrolloida taudinaiheuttajia ja samalla tapahtuu elimistön omien pehmyt- ja kovakudosten tuhoutumista. Parodontiittiin liittyvät immuunireaktiot ovat monimutkaisia ja niistä vastaavat sekä luonnollinen että hankittu immunitaetti (Kuva 1).

Luonnollinen immunitaetti vastaa elimistön ensivaiheen puolustuksesta taudinaiheuttajia vastaan. Bakteerien metaboliatuotteet saavat liitosepiteelin tuottamaan sytokiineja, kuten tuumorinekroositekijä (TNF)- α :aa, interleukiini (IL)-1 β :aa, IL-6:tta ja IL-8:aa ja hermosolut tuottamaan neuropeptidejä, jotka aiheuttavat paikallista verisuonten laajenemista. Neutrofiilit vaeltavat tulehdusalueelle IL-8:n ohjaamana. Neutrofiilien määrä sidekudoksessa kasvaa ja kudokseen ilmestyy myös makrofageja, lymfosyyttejä, plasmasoluja ja syöttösoluja. Lisäksi komplementti aktivoituu. Kliinisiä merkkejä ientulehduksesta voidaan havaita tässä kohtaa. (Cekici ym. 2013.)

Jos luonnollinen immunitaetti ei pysty pysäyttämään tulehdusta, jatkaa hankittu immunitaetti. Tässä vaiheessa pääroolissa ovat makrofagit, lymfosyytit ja vasta-aineita tuottavat plasmasolut. Lipopolysakkaridien (LPS) aktivoimat makrofagit tuottavat IL-1 β :a, TNF- α :a, matriksin metalloproteinaaseja (MMP) ja prostaglandiini E₂:ta (PGE₂). IL-1 β ja TNF- α aktivoivat fibroblasteja tuottamaan PGE₂:ta ja MMP:a. Tämä johtaa solunulkoisen matriisin tuhoutumiseen. (Page ym. 1997.)

Alveoliluun tuhoutuminen on olennainen osa parodontiittia. Bakteerien metabolia tuotteet ja sytokiinit johtavat luuta muodostavien osteoblastien ja luuta tuhoavien osteoklastien toiminnan häiriintymiseen ja alveoliluun resorptioon. Aktivoituneet T-solut tuottavat RANKL:a (engl. *receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*). RANKL:n tuottoa T-soluissa voivat lisätä esimerkiksi proinflammatoriset sytokiinit. RANKL sitoutuu osteoklastien esiasteiden pinnalla oleviin reseptoreihin ja saavat ne erilaistumaan osteoklasteiksi, mistä seuraa luun resorptiota. RANK/RANKL-systeemiä kontrolloi osteoprotegeeni (OPG), joka estää RANKL:n sitoutumisen RANK:iin. (Bostanci ym 2007, Taubman ym. 2007.)



Kuva 1. Parodontiitin patogeneesi (mukaillen Page ym. 2007).

2 LIHAVUUS

2.1 Ylipainon ja lihavuuden määritelmät

Ylipainossa ja lihavuudessa tapahtuu ylimääräisen rasvan kertymistä elimistöön, mikä voi vaarantaa terveyden. Painoindeksi eli BMI (engl. *body mass index*) on yleisesti käytetty tapa luokitella ylipaino ja lihavuus. BMI ilmaisee henkilön massan suhteen pituuden neliöön (kg/m^2). Ylipainoiseksi luokitellaan henkilö, jonka BMI on suurempi tai yhtä suuri kuin $25 \text{ kg}/\text{m}^2$ ja lihavaksi luokitellaan henkilö, jonka BMI on suurempi tai yhtä suuri kuin $30 \text{ kg}/\text{m}^2$. (WHO 2014.)

Ylipaino ja lihavuus ovat kasvavia kansainvälisiä ongelmia ja niiden seurauksena kuolee vuosittain noin 3,4 miljoonaa aikuista. Ne johtuvat epätasapainosta energian saannin ja kulutuksen välillä. Ruuasta saadun energian määrä on kasvanut ja samalla liikunnan määrä on vähentynyt. Ylipainoon ja lihavuuteen liittyy monia liitännäissairauksia, kuten sydän- ja verenkiertoelimistön sairauksia, diabetes, tuki- ja liikuntaelimistön sairauksia ja joitakin syöpiä. Riski liitännäissairauksille kasvaa BMI:n kasvaessa. (WHO 2014.)

2.2 Valkoinen rasvakudos

Elimistön rasvakudos jaetaan valkoiseen ja ruskeaan rasvakudokseen. Suurin osa rasvakudoksesta on valkoista rasvakudosta, joka toimii energiavarastona. Valkoinen rasvakudos koostuu pääosin viskeraalisesta eli elimellisestä (n. 10 %) ja ihonalaisesta

rasvakudoksesta (n. 85 %). Energian varastoinnin lisäksi valkoinen rasvakudos toimii endokriinisenä elimenä, joka tuottaa bioaktiivisia molekyyliä, joita kutsutaan adipokiineiksi. Ihonalaiseen rasvakudokseen verrattuna viskeraalinen rasvakudos on aineenvaihdunnaltaan aktiivisempaa. (Kershaw ja Flier 2004.)

Valkoinen rasvakudos on myös immunologinen elin, jossa on huomattava määrä valkosoluja. Rasvasolujen ja valkosolujen yhteistoiminta auttaa elimistöä säätelemään energiavarastoja ravinnonpuutteen tai patogeenialtistuksen aikana. Nykyään aliravitsemusta suurempi ongelma on kuitenkin energian liiallinen saanti. Lihavuuden liitännäissairaudet liittyvät vahvasti lihavuudesta johtuvaan valkoisen rasvakudoksen tulehdukseen ja siitä seuraavaan suurentuneeseen tulehdusmerkkiaineiden pitoisuuksiin elimistössä. (Dalmas ym. 2011.)

Liika energian saanti johtaa rasvasolujen hypertrofiaan valkoisessa rasvakudoksessa. Hypertrofiset rasvasolut eivät pysty varastoimaan kunnolla ylimääräistä energiaa. Tämä johtaa häiriötilaan rasvakudoksessa. Rasvasolut vapauttavat sytokiineja, kemokiineja ja proinflammatorisia rasvahappoja, mistä seuraa lisääntynyt tulehdus ja leukosyyttien määrän ja fenotyyppien muutos rasvakudoksessa. Valkosolujen vapauttamat pro- ja anti-inflammatoriset molekyylit taas vaikuttavat rasvakudokseen lisäten sen tulehdusta. (Cinti ym. 2005.)

Makrofagit ovat valkoisen rasvakudoksen runsaslukuisin valkosoluryhmä ja liittyvät keskeisesti lihavuuden aiheuttamaan tulehdukseen (Weisberg ym. 2003). Makrofagien määrän on havaittu lisääntyvän rasvasolujen hypertrofian ja BMI:n lisääntyessä (Curat ym. 2004). Riippuen ympäröivän kudoksen tekijöistä ja kiertävistä monosyytti-alalajeista, makrofagit voivat polarisoitua joko pro- (M1) tai anti-inflammatoriseen (M2) muotoon. Lihavuus aiheuttaa makrofageissa fenotyyppimuutoksen M2-muodosta M1-muotoon. Anti-inflammatoriset M2-muodon makrofagit tuottavat IL-10:tä, joka lisää insuliiniherkkyyttä rasvasoluissa. Proinflammatoriset M1-tyypin makrofagit kiinnittyvät nekrotisoituvien rasvasolujen ympärille tulehtuneessa rasvakudoksessa ja tuottavat huomattavia määriä proinflammatorisia sytokiineja (esim, IL-6 ja TNF- α). (Lumeng ym. 2007, Wentworth ym. 2010.)

2.3 Lihavuus ja tulehdus

Lihavuus aiheuttaa elimistöön matala-asteisen tulehduksellisen tilan (Cancello ja Clément 2006). Aiemmin valkoisen rasvakudoksen uskottiin olevan lähinnä triglyseridien varasto.

Nykyään tiedetään, että valkoinen rasvakudos on monimutkainen endokriininen elin, joka tuottaa useita immuunivasteeseen vaikuttavia tekijöitä ja säätelee elimistön metaboliaa. Valkoisen rasvakudoksen solut tuottavat yli 50:tä molekyyliä, jotka tunnetaan yhteisnimellä adipokiinit. Adipokiinien vaikutukset voivat olla paikallisia tai systeemisiä. Adipokiinit toimivat eri tavoin: ne saattavat olla hormoninkaltaisia molekyyliä, sytokiineja, hemostaasiin liittyviä proteiineja, verenpaineen säätelijöitä, angiogeneesin edistäjiä tai akuutin faasin proteiineja (Ritchie 2007, Trayhurn ja Wood 2004.)

Leptiini on hormoninkaltainen molekyyli, jota rasvasolut tuottavat. Leptiini vähentää ruokahalua ja lisää energian kulutusta. Useilla lihavilla henkilöillä on kohonnut leptiinipitoisuus, joka ei vähennä ruokahalua. Leptiiniresistenssin uskotaan olevan lihavuuden taustalla. (Correia ja Haynes 2004.) Myös adiponektiini on hormoninkaltainen rasvasolujen tuottama molekyyli. Adiponektiinin määrä vähenee lihavilla henkilöillä. Madaltunut adiponektiinipitoisuus on liitetty lisääntyneeseen sydän ja verenkiertoelimistön sairauksien riskiin ja metaboliseen oireyhtymään. (Kumada ym. 2003.)

Lihavuus aiheuttaa morfologisia ja metabolisia muutoksia valkoiseen rasvakudokseen ja muihin elimiin kuten haimaan, hypotalamukseen, lihakseen ja maksaan. Liiallinen triglyserolien määrä suurentaa rasvasoluja ja aloittaa stressivasteen, josta seuraa tulehduksellisten signaalinvälitysteiden aktivoituminen. Seerumin vapaat rasvahapot ja niiden pilkkoutumistuotteet aloittavat myös tulehduskaskadeja, jotka lisäävät sytokiinien eritystä. (Rocha ja Libby 2009.) Sytokiinit edistävät monosyyttien muuttumista inflammatorisiksi makrofageiksi rasvakudoksessa. Makrofagit vastaavat paikallisesta TNF- α :n ja IL-6:n tuotosta, jotka puolestaan lisäävät CRP:n (engl. *C-reactive protein*) tuottoa. Makrofagien määrä on suoraan riippuvainen lihavuuden asteesta ja sitä voidaan pienentää liikunnalla. (Weisberg ym. 2003.)

3 LIHAVUUS JA PARODONTIITTI

Lihavuuden ja parodontiitin välinen yhteys esitettiin ensimmäisen kerran vuonna 1977, kun lihavilla rotilla havaittiin muutoksia parodontiumissa (Perlstein ja Bissada 1977). Parodontiitin ja lihavuuden välillä on osoitettu olevan yhteys monissa tutkimuksissa (Al-Zahrani ym. 2003, D'Aiuto ym. 2008, Reeves ym. 2006, Wood ym. 2003).

3.1 Suun mikrobit

Haffajee ja Socransky (2009) vertailivat tutkimuksessaan gingiviittiä sairastavia ja terveitä henkilöitä kroonista parodontiittia sairastaviin henkilöihin. He havaitsivat huomattavasti suuremman määrän suuremman määrän *T. forsythia* -bakteeria lihavilla henkilöillä, jotka sairastivat gingiviittiä verrattuna muihin testiryhmiin. *T. forsythian* lisääntynyt määrä lihavilla gingiviittipotilailla voi johtaa suurentuneeseen riskiin sairastua parodontiittiin.

3.2 Tulehdusvaste

Lihavien henkilöiden elimistössä on havaittu vallitsevan matala-asteinen subkliininen tulehdus, johon liittyvät lisääntynyt määrä akuutin faasin proteiineja, proinflammatorisia sytokiineja ja valkosoluja (Bistran 2007). Useissa tutkimuksissa on osoitettu, että rasvasolujen tuottamien proinflammatoristen sytokiinien määrä seerumissa on kohonnut lihavilla ihmisillä. (Bruun ym. 2003, Kopp ym. 2003). Lihavilla henkilöillä erityisesti seerumin IL-6 ja TNF- α pitoisuudet ovat korkeammat ja näillä sytokiineilla voi olla suora vaikutus parodontaalikudoksiin. (Boesing ym. 2009)

3.3 Lisääntynyt oksidatiivinen stressi

Oksidatiivisen stressin on ajateltu olevan yhdistävä tekijä lihavuuden ja parodontiitin välillä. Lihavilla henkilöillä elimistö ei pysty sopeutumaan jatkuvaan energian saantiin. Tästä seuraa elimistön lisääntynyt oksidatiivinen stressi, joka johtaa tulehdusvasteen käynnistymiseen ja soluelinten toiminnan häiriöön. (Suresh ja Mahendra, 2014.)

Korkea ROS-pitoisuus (engl. *reactive oxygen species*) ja antioksidanttiaktiivisuuden madaltuminen voi lisätä parodontaalikudosten tuhoa (Kroll, 2004). Parodontiittia sairastavilla henkilöillä on havaittu korkeampaa ienkudoksen lipidien peroksidaatioastetta (Tsai ym. 2005, Takane ym. 2002).

3.4 Insuliiniresistenssi

Genco ym. (2005) havaitsivat tutkimuksessaan, että parodontaalinen kiinnityskuduskato lisääntyi insuliiniresistenssin myötä. He havaitsivat myös, että lihavilla henkilöillä, joilla oli insuliiniresistenssi, oli enemmän kiinnityskuduskatoa kuin normaalipainoisilla.

Insuliiniresistenssi johtaa tulehduksen lisääntymiseen elimistössä ja edistää bakteerien aiheuttaman parodontiitin kehittymistä.

4 SYLKI

4.1 Syljen koostumus ja merkitys suussa

Sylki on hieman hapan monimutkainen nesteiden seos, joka on peräisin suurista ja pienistä sylkirauhasista ja ientaskunesteestä. Terveellä henkilöllä syljen erityös on noin 1–1,5 litraa päivässä. 99 % syljestä on vettä. Sylki koostuu myös monista elektrolyyteistä, kuten natriumista, kaliumista, kalsiumista, magnesiumista, bikarbonaatista ja fosfaateista. Lisäksi syljessä on immunoglobuliineja, proteiineja, entsyymejä, musiineja ja typpipohjaisia molekyyliä. Sylki toimii puskurina suun pH-muutoksia vastaan, suojaa mikrobeilta sekä vaikuttaa hampaiden kovakudoksen liukenemiseen ja uudelleen mineralisoitumiseen. Lisäksi sylki voitelee limakalvoja ja on tärkeä makuaistimuksen synnyssä. (Humphrey ja Williamson 2001, Miller ym. 2010.)

4.2 Sylki diagnostisena materiaalina

Sylki on biologinen neste, jota terveellä henkilöllä erittyy runsaasti. Sen kerääminen on helppoa, eikä siihen vaadita invasiivisia kipua tuottavia menetelmiä, kuten verinäytteiden keräämistä. Lisäksi syljen kerääminen on halpaa, eikä siihen vaadita lääketieteellisesti koulutettua henkilökuntaa. Syljen käyttö diagnostisena materiaalina on herättänyt kiinnostusta jo pitkään. (Hu ym. 2006.) Sylkidiagnostiikkaa on ehdotettu erilaisten systeemisten tautien, kuten syövän ja HIV-tartunnan toteamiseen ja suusairauksien diagnosointiin. Lisäksi sylkeä voidaan käyttää materiaalina huumetesteihin ja geenianalyyseihin. (Taylor 2013.)

Sylki on lupaava diagnostinen väline, koska se sisältää sekä paikallisia että systeemisiä tekijöitä. Sylkidiagnostiikan hyödyistä huolimatta sylki ei ole vielä yleisesti käytössä diagnostisena materiaalina. Vaikka useat seerumissa olevat analyytit voidaan havaita myös syljestä, on niiden pitoisuus syljessä huomattavasti matalampi kuin seerumissa. (Yoshizawa ym. 2013.)

5 SYTOKIINIT

5.1 Parodontiitin patogeneesin kannalta olennaiset sytokiinit

Sytokiinit ovat biologisesti aktiivisia proteiineja. Ne voidaan jakaa karkeasti pro- ja anti-inflammatorisiin sytokiineihin. Sytokiinien tuotto parodontiitin kehittymisen aikana saa alkunsa mikrobien tuottamien molekyylien ja hahmotunnistusreseptorien vuorovaikutuksesta. Tällaisia reseptoreita sijaitsee monissa eri soluissa parodontaalikudoksissa ja valkosoluissa. (Bartold ja Narayanan 2006.) IL-1 β , IL-6 ja TNF- α ovat proinflammatorisia sytokiineja, joilla on ajateltu olevan olennainen rooli parodontaalikudosten tuhoutumisessa (Graves 2008). Tässä tutkimuksessa keskityttiin tarkemmin sytokiineihin IL-1 β , IL-1 -reseptorin antagonisti (ra), IL-6, IL-8, IL-10 ja TNF- α .

5.2 Interleukiini-1 β

IL-1 β on proinflammatorinen sytokiini, jota parodontaalikudosten sidekudossolut ja valkosolut tuottavat. Se saa aikaan tulehdukseen liittyviä vaskulaarisia muutoksia ja säätelee neutrofiilien vaeltamista parodontaalikudoksiin. Lisäksi se stimuloi antigeenin esittelyä ja vaikuttaa T-lymfosyyttien aktivoitumiseen. Yhdessä IL-1 β , TNF- α ja PGE₂ aktivoivat osteoklasteja, lisäävät MMP:en tuotantoa ja johtavat alveoliluun resorptioon. (Barksby ym. 2007, Assuma ym. 1998.) IL-1 β :n määrän on havaittu olevan huomattavasti korkeampi parodontiittia sairastavien henkilöiden syljessä kuin terveiden henkilöiden syljessä (Miller ym. 2006).

5.3 Interleukiini-1 -reseptorin antagonisti

IL-1ra sitoutuu IL-1-reseptoriin, mutta ei saa aikaan signaalinvälitysketjun aktivoitumista, kuten IL-1 β . Näin ollen se toimii IL-1 β :n antagonistina. Hieman kohollaan oleva IL-1 β :v pitoisuus voi saada aikaan tulehdusreaktion, mutta IL-1 β :n antagonistina toimiva IL-1-ra estää tulehduksen syntymistä. (Dripps ym. 1991.)

Morelli ym. (2014) havaitsivat tutkimuksessaan korkeamman IL-1 β -pitoisuuden parodontiittia sairastavien syljessä, kun taas terveiden syljessä korkeamman IL-1-ra-pitoisuus oli kohonnut.

5.4 Interleukiini-6

T- ja B-lymfosyytit, makrofagit, endoteeli- ja epiteelisolut ja fibroblastit tuottavat IL-6:tta infektion, stressin tai kasvainsolujen seurauksena. IL-1 β ja TNF- α lisäävät sen tuotantoa. IL-6 säätelee T- ja B-lymfosyyttien ja osteoklastien kehittymistä ja aktiivisuutta. (Miller ym. 2010.) IL-6:n ja parodontiittiin liittyvän luutuhon yhteyttä ei ole varmasti pystytty osoittamaan tutkimuksissa (Scannapieco ym. 2007, Fine ym. 2009).

5.5 Interleukiini-8

IL-8 on proinflammatorinen sytokiini. Sitä tuottavat pääasiassa makrofagit ja epiteelisolut, mutta myös monet muut solutyypit pystyvät tuottamaan sitä. IL-8:n on kemotaktinen molekyyli, joka saa aikaan neutrofiilien saapumisen tulehdusalueelle. Jatkuva kemotaksis ja neutrofiilien aktivaatio voi johtaa paikalliseen kudostuhoon parodontaalikudoksissa. (Okada ja Murakami 1998)

5.6 Interleukiini-10

IL-10 on anti-inflammatorinen immuunivastetta säätelevä sytokiini. IL-10 on pääsääntöisesti peräisin monosyyteistä ja T- ja B-lymfosyyteistä. Se inhiboi monosyyttien ja makrofagien kykyä esitellä antigeeneja T-soluille ja estää IL-1:n, IL-6:n, IL-8:n, IL-12:n ja TNF- α :n synteesiä. B-soluissa IL-10 estää apoptoosia, edistää solun jakautumista ja lisää vasta-aineiden tuottoa (Trifunovic ym. 2015.)

5.7 Tuumorinekroositekijä- α

TNF- α on proinflammatorinen sytokiini, joka on keskeinen monien tulehduksellisten tilojen patogeneesissa. Sillä on tärkeä rooli puolustussolujen houkuttelemisessa tulehdusalueelle ja luun resorptiossa. (Miller ym. 2010.)

TNF- α :n ja parodontiitin välistä yhteyttä ei ole voitu luotettavasti osoittaa. Useissa tutkimuksissa syljen TNF- α -pitoisuudet ovat olleet todella matalia. (Scannapieco ym. 2007; Miller ym. 2010.) Joissain tutkimuksissa TNF- α :n on osoitettu olevan korkeampi parodontiittia sairastavilla kuin terveillä (Frodge ym. 2008).

6 AINEISTO JA MENETELMÄT

6.1 DILGOM-tutkimus

Tutkimuksessa käytetyt sylkinäytteet olivat peräisin DILGOM-tutkimuksesta, joka toteutettiin kansallisen FINRISKI 2007 -tutkimuksen alla. FINRISKI 2007 -tutkimus toteutettiin tammi- ja maaliskuun 2007 välillä. Sen tavoitteena oli selvittää keskeisten kroonisten kansantautien riskitekijöitä. Tutkittavat olivat 25–74-vuotiaita miehiä ja naisia, jotka valittiin sattumanvaraisesti Suomen väestörekisteristä. Heidät jaettiin ryhmiin sukupuolen, iän ja viiden maantieteellisen alueen perusteella. Näistä 10 000:stä tutkimukseen kutsutusta 6258 henkilöä osallistui terveystutkimukseen ja vastasi kyselyyn.

Lihavuuden tarkempaa tutkimusta varten FINRISKI 2007 -tutkimukseen osallistuneet koehenkilöt kutsuttiin DILGOM-tutkimukseen, joka toteutettiin huhti- ja kesäkuun 2007 aikana. DILGOM-tutkimuksen tavoitteena oli selvittää ravitsemuksen, elämäntapojen ja perintötekijöiden yhteyttä lihavuuteen ja metaboliseen oireyhtymään. Tutkimukseen osallistui 2325 miestä ja 2699 naista. Tutkittavien pituus, paino, vyötärön ympäryys ja rasvaprosentti mitattiin terveystarkastuksen yhteydessä ja heidän ruokailutottumuksiaan, liikunnan määrää ja suun hoitotottumuksiaan selvitettiin kyselyillä.

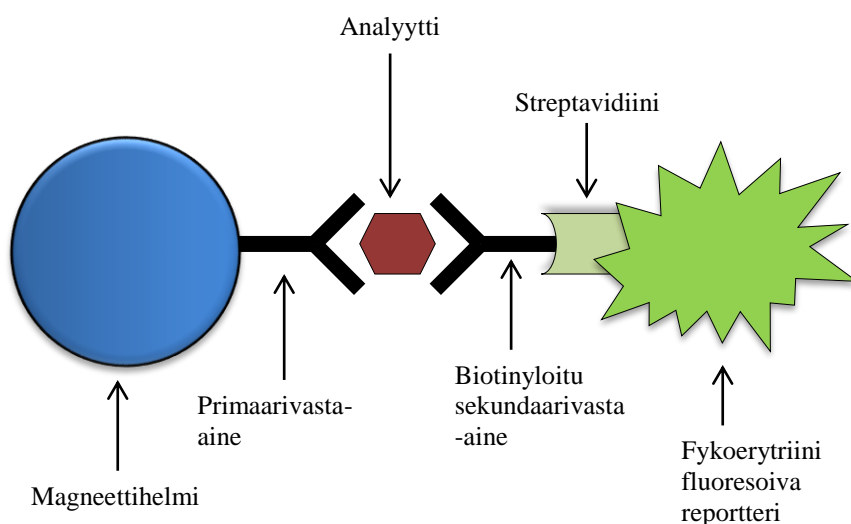
DILGOM-tutkimuksen henkilöt valuttivat parafiinistimuloidun kokosylkinäytteen kalibroituhiin lääketieteellisiin keräysastioihin. Näytteet säilytettiin -70 °C:ssa. Tässä tutkimuksessa analysoitiin 578 sylkinäytettä DILGOM-tutkimuksesta. 293 näytteistä oli henkilöiltä, joiden BMI oli normaali 18,5–25 kg/m² ja 285 näytteistä oli henkilöiltä, jotka olivat vaikeasti lihavia eli BMI oli suurempi kuin 35 kg/m².

6.2 Luminex-teknologia

Sylkinäytteiden analysointiin käytettiin Luminex® xMAP™ -teknologiaan perustuvaa Bio-Plex™ 200 -laitetta (Bio-Rad Laboratories Incorporation, USA) ja Bio-Plex Pro™ Human Cytokine -reagenssisarjaa (Bio-Rad Laboratories Incorporation, USA). Määrittäminen perinteistä ELISA-määrittämisestä. Primaarivasta-aine on sidottu kovalenttisesti magneettihelmeen. Helmeen sidottu vasta-aine tunnistaa näytteestä tietyn analyytin. Tämän jälkeen biotinyloitu sekundaarivasta-aine sitoutuu analyyyttiin, jolloin muodostuu niin sanottu

sandwich-kompleksi. Lopuksi fluoresoivalla fykoerytriinilla leimattu streptavidini sitoutuu vielä biotiiniin (Kuva 2).

Teknologia mahdollistaa useiden analyyttien tunnistamisen samaan aikaan, sillä eri vasta-aineilla päällystettyihin magneettihelmiin voidaan käyttää eri aallonpituudella emittoivia fluorokromeja ja näin ollen magneettihelmet voidaan erottaa toisistaan. Analysointiin käytetty laite perustuu virtausytometriin. Laite virittää magneettihelmien fluorokromit esimerkiksi punaisella laserilla (635 nm), jolloin määrittystyyppi voidaan tunnistaa magneettihelmen emissioaallonpituuden perusteella. Tämän jälkeen laite virittää vihreällä laserilla (532 nm) fykoerytriinin. Fykoerytriinin sitoutuminen kertoo halutun analyytin sitoutuneen magneettihelmen pinnalle.



Kuva 2. Kaaviokuva Bio-Plex Pro™ Human Cytokine -määrittämisestä.

6.3 Sytokiinien määrittäminen sylkinäytteistä

Sytokiinien määrittämiseen käytettiin kahta eri Bio-Plex Pro™ Human Cytokine -reagenssisarjaa. Toisella reagenssisarjalla määritettiin IL-1 β , IL-1ra ja IL-8 ja toisella IL-6, IL-10 ja TNF- α . Sylkinäytteitä oli yhteensä 578. Ennen määrittämistä pakastetut sylkinäytteet sulatettiin, sekoitettiin kevyesti ja sentrifugoitiin nopeasti (10 000 G) siten, että sentrifugi pysäytettiin sen saavutettua tavoitenoisuuden ja pelletti jäi näyteputken pohjalle.

Standardisarja ja kontrollinäytteet valmistettiin reagenssisarjan ohjeiden mukaisesti. 96-kuoppalevyn kaivot esikostutettiin näytepuskurilla ja kuivattiin taputteleamalla levyä kevyesti paperipyyhkeisiin. Kaivoihin pipetoitiin helmiliuos, jonka jälkeen levyä inkuboitiin 60 s ajan

magneetilla. Ylimääräinen helmiliuos kaadettiin pois kuopista ja levy kuivattiin paperipyyhkeeseen. Tämän jälkeen levy pestiin kaksi kertaa pesupuskurilla.

Standardisarja, kontrollinäytteet ja sylkinäytteet pipetoitiin kaivoihin. Levy suojattiin valolta muovikalvolla ja foliolla, jonka jälkeen sitä ravisteltiin 30 s ajan 1100 rpm:ssä ja 22 °C:ssa. Tämän jälkeen levyä inkuboitiin sekoittajassa (300 rpm) huoneen lämmössä 30 min ajan. Inkubaation jälkeen levy pestiin kolme kertaa pesupuskurilla.

Sekundaarivasta-aine pipetoitiin kaivoihin ja levy inkuboitiin sekoittajassa kuten edellä. Levy pestiin kolme kertaa pesupuskurilla ja kaivoihin lisättiin streptavidiini-fykoerytriini. Tämän jälkeen levyä inkuboitiin ravistelijassa muuten kuten edellä, mutta 30 min inkubointi korvattiin 10 min inkuboinnilla. Inkubaation jälkeen levy pestiin vielä kolmeen kertaan ja kaivoihin lisättiin määrityspuskuria. Määrityspuskuria inkuboitiin kaivoissa (300 rpm) 30 s ajan.

Näytteet analysoitiin Bio-Plex™ 200 -laitteella. Standardikäyrän avulla voitiin määrittää näytteissä olevien sytokiinien määrä.

6.4 Tilastollinen analyysi

Tulokset käsiteltiin SPSS-tilasto-ohjelmalla (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Normatiivisuuden määrittäminen tehtiin Kolmogorov-Smirnov -testillä. Tulokset eivät noudattaneet normaalijakaumaa, joten analyysissä käytettiin epäparametrisia testejä. Mann-Whitney U -testin avulla selvitettiin IL-1 β :n, IL-1ra:n, IL-6:n, IL-8:n, IL-10:n ja TNF- α :n yhteyttä painoindeksiin normaalipainoisilla (BMI<25) ja vaikeasti lihavilla henkilöillä (BMI>35). Ryhmien keskinäistä korrelaatiota ja tupakoinnin vaikutusta selvitettiin Spearmanin testillä.

7 TULOKSET

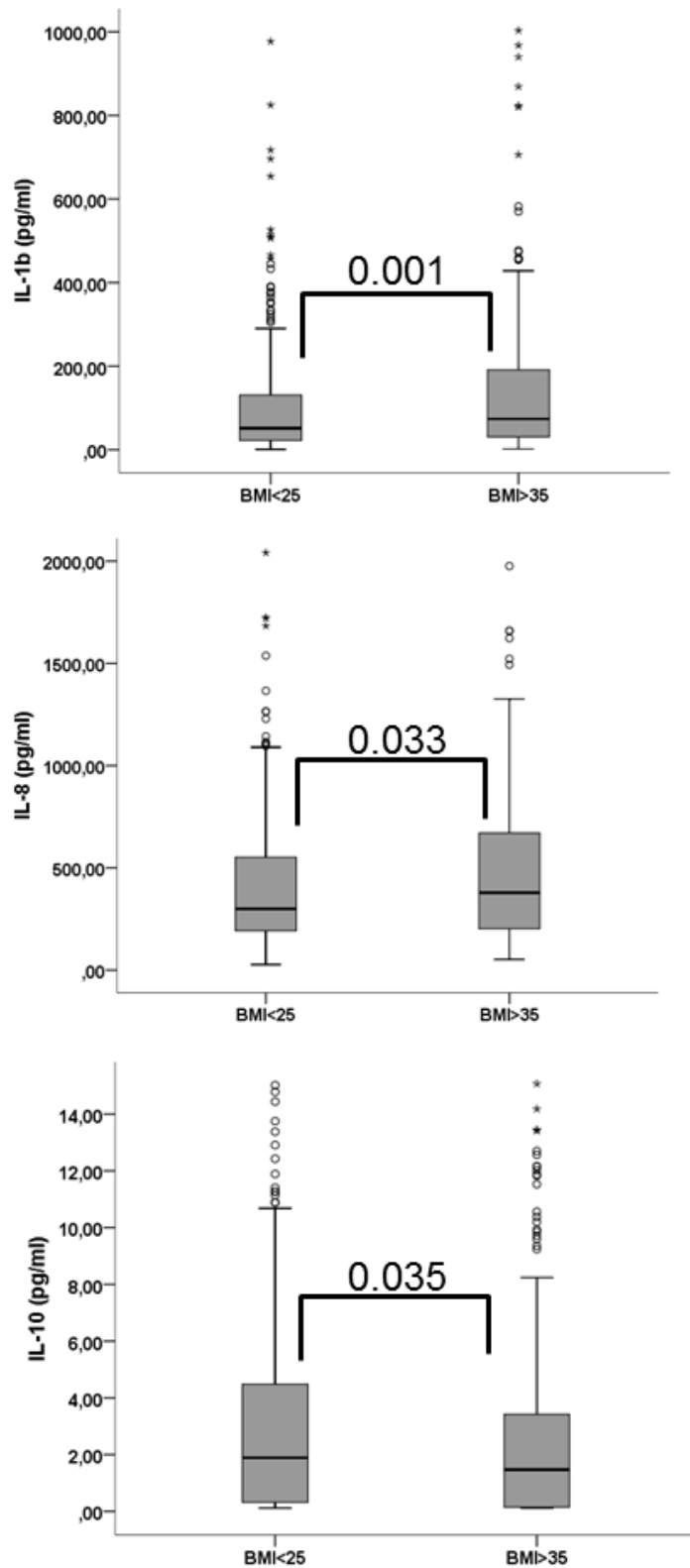
Molemmissa ryhmissä ikäjakauma oli samanlainen. Kussakin ryhmässä tutkittavista 32,8 % oli miehiä ja 17,0 % oli tupakoitsijoita (taulukko 2).

Taulukko 2. Koehenkilöiden ikä, sukupuolijakauma ja tupakoitsijoiden määrä

	BMI<25	BMI>35	<i>p</i>
Ikä	55,89 \pm 11,98	55,87 \pm 11,97	0,987
Mies sukupuoli	32,8	32,8	1,00

(%)			
Tupakoitsijat (%)	17,0	17,0	1,00

Ryhmien välillä ei havaittu tilastollisesti merkittävää eroa IL-1ra- ($p=0,095$), IL-6 ($p=0,077$) ja TNF- α -pitoisuuksissa ($p=0,229$). Lihavilla havaittiin korkeammat IL-1 β - ($p=0,001$) ja IL-8-tasot ($p=0,033$) verrattuna normaalipainoisiin. Normaalipainoisilla havaittiin korkeammat IL-10-tasot ($p=0,035$) verrattuna vaikeasti lihaviin (kuva 3).



Kuva 3. Syljen IL-1β-, IL-8-, and IL-10-konsentraatiot tutkittavissa ryhmissä.

BMI:n ja IL-1β:n, IL-8:n ja IL-10:n välillä havaittiin korrelaatio. Korrelaatiokerroin BMI:n ja IL-1β:n välillä on 0,158 ($p < 0,001$), BMI:n ja IL-8:n välillä 0,095 ($p = 0,022$) ja BMI:n ja IL-10:n välillä -0,105 ($p = 0,011$) (taulukko 3).

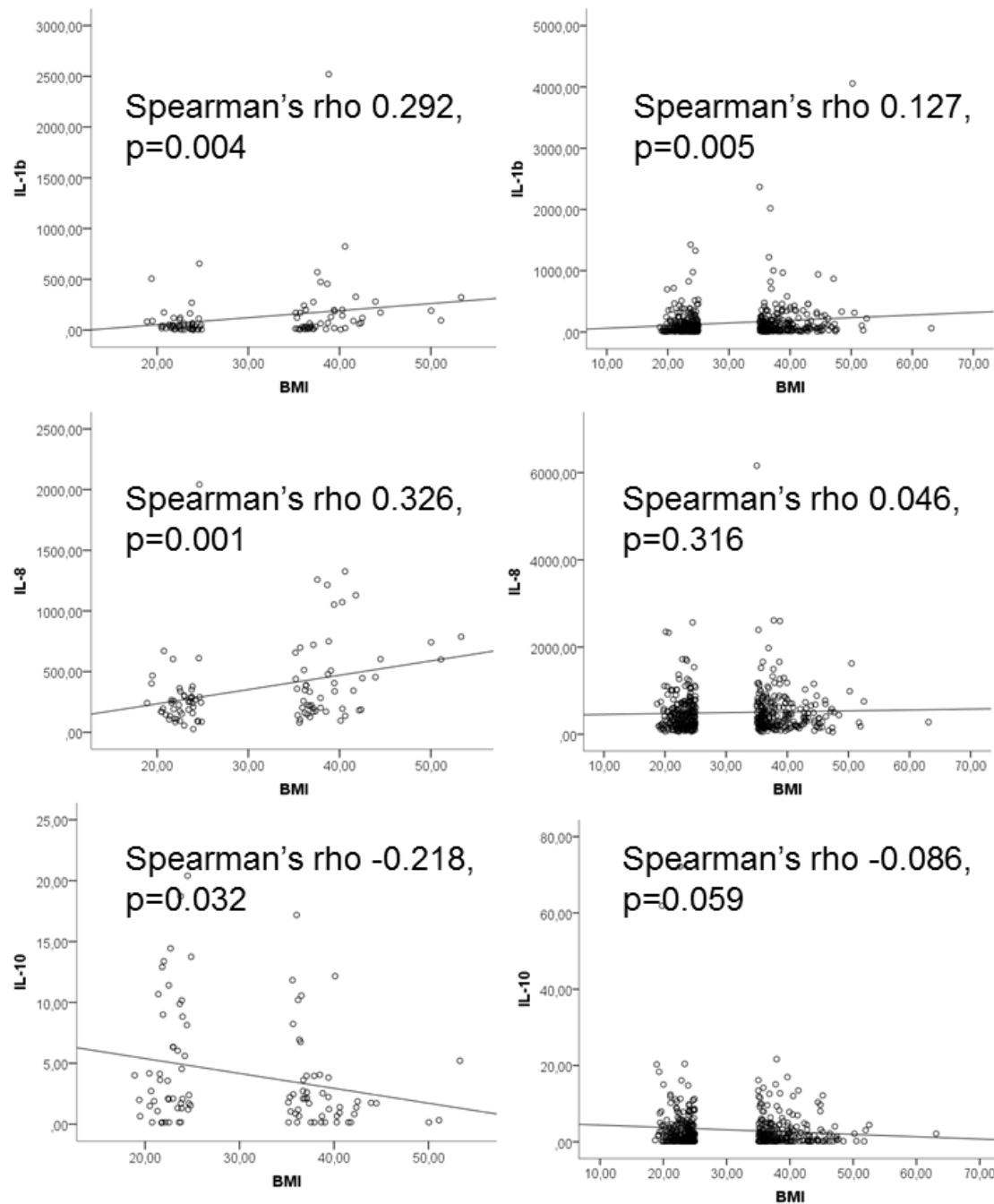
Taulukko 3. Korrelaatiokertoimet BMI:n ja IL-1 β :n, IL-8:n ja IL-10:n välille koko tutkimusjoukossa.

	IL-1β	IL-8	IL-10
BMI (kg/m²)	0.158, p<0.001	0.095, p=0.022	-0.105, p=0.011

Tupakoitsijoiden ryhmässä havaittiin selkeä korrelaatio BMI:n ja IL-1 β :n, IL-8:n ja IL-10:n välillä. Ei-tupakoitsijoiden ryhmässä havaittiin selkeä korrelaatio BMI:n ja IL-1 β :n välillä, kun taas IL-8:n ja IL-10:n osalta ei havaittu selkeää korrelaatiota. Ei-tupakoitsevien ryhmässä ei ollut merkittävää tilastollista eroa normaalipainoisten ja lihavien välillä IL-8: n (p=0,316) ja IL-10:n (p=0,059) osalta, kun taas IL-1 β :n (p=0.005) osalta ryhmien välillä oli tilastollisesti merkittävä ero. Tupakoitsijoiden ryhmässä normaalipainoisten ja lihavien välillä oli tilastollisesti merkittävä ero IL-1 β :n (p=0,004), IL-8:n (p=0,001) ja IL-10:n (p=0,0032) osalta.

TUPAKOITSIJAT

EI-TUPAKOITSIJAT



Kuva 4. Korrelaatiokertoimet BMI:n ja IL-1β:n, IL-8:n, and IL-10:n välillä tupakoitsijoilla ja ei-tupakoitsijoilla.

8 YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET

- 1) Syljen IL-1 β - ja IL-8-pitoisuudet ovat korkeampia lihavilla kuin normaalipainoisilla ja IL-10-pitoisuudet ovat korkeampia normaalipainoisilla kuin lihavilla. Syljen IL-1 β -, IL-8- ja IL-10-pitoisuudet korreloivat BMI:n nousuun.
- 2) Tupakoitsijoiden ryhmässä BMI:n noustessa pro-inflammatoristen sytokiinien eli IL-1 β :n ja IL-8:n pitoisuus nousee ja anti-inflammatorisen IL-10:n pitoisuus laskee. Ei-tupakoitsijoiden ryhmässä BMI:n noustessa IL-1 β -pitoisuus nousee. Korkea BMI aktivoi tulehdustilaa suussa ja tupakointi lisää riskiä.

9 LÄHTEET

Aas J.A., Paster B.J., Stokes L.N., Olsen I. ja Dewhirst F.E. (2005) Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J. Clin. Microbiol.* **43**:5721–5732.

Al-Zahrani M.S., Bissada N.F. ja Borawskit E.A. (2003) Obesity and periodontal disease in young, middle-aged, and older adults. *J. Periodontol.* **74**:610-615.

Assuma R., Oates T., Cochran D., Amar S. ja Graves D. (1998) IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J. Immunol.* **160**:403–409.

Armitage G.C. (1999) Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann. Periodontol.* **4**:1–6.

Barksby H.E., Lea S.R., Preshaw P.M. ja Taylor J.J. (2007) The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders,” *Clin. Exp. Immunol.* **149**:217–225.

Bartold P.M. ja Narayanan A.S. (2006) Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissue. *Periodontol. 2000.* **40**:29–49.

Berezow A.B. ja Darveau R.P. (2011) Microbial shift and periodontitis. *Periodontol. 2000.* **55**:36-47.

Bergström J. (1990) Oral hygiene compliance and gingivitis expression in cigarette smokers. *Scand. J. Dent. Res.* **98**:497–503.

Bergström J. ja Preber H. (1994) Tobacco use as a risk factor for periodontitis. *J. Periodontol.* **65**:545–550.

Bistran B. (2007) Systemic response to inflammation. *Nutr. Rev.* **65**:170–172.

Boesing F., J. S. R. Patino J., da Silva V. ja Moreira E. (2009) The interface between obesity and periodontitis with emphasis on oxidative stress and inflammatory response. *Obes. Rev.*

10:290–297.

Bostanci N., Ilgenli T., Emingil G., Afacan B., Han B., Toz H., Atilla G., Hughes F.J. ja Belibasakis G.N. (2007) Gingival crevicular fluid levels of RANKL & OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J. Clin. Periodontol.* **34**:370–376.

Brownlee M. (2005) The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* **54**:1615–1625.

Bruun J.M., Verdich C., Toubro S., Astrup A. ja Richelsen B. (2003) Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. Effect of weight loss in obese men. *Eur. J. Endocrinol.* **148**:535–542.

Cancello R. ja Clément K. (2006) Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG.* **113**:1141–1147.

Cinti S., Mitchell G., Barbatelli G., Murano I., Ceresi E., Faloia E., Wang S., Fortier M., Greenberg A.S. ja Obin M.S. (2005) Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* **46**:2347–2355.

Correia M.L. ja Haynes W.G. (2004) Obesity-related hypertension: is there a role for selective leptin resistance? *Curr. Hypertens. Rep.* **6**:230–235.

Curat C.A., Miranville A., Sengenès C., Diehl M., Tonus C., Busse R. ja Bouloumie A. (2004) From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes.* **53**:1285–1292.

Cutler C.W., Machen R.L., Jotwani R. ja Iacopino A.M. (1999) Heightened gingival inflammation and attachment loss in type 2 diabetics with hyperlipidemia. *J. Periodontol.* **70**:1313–1321.

D'Aiuto F., Sabbah W. ja Netuveli G. (2008) Association of the metabolic syndrome with severe periodontitis in a large U.S. population-based survey. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **93**:3989–3994.

Dalmas E., Clement K. ja Guerre-Millo M. (2011) Defining macrophage phenotype and function in adipose tissue. *Trends Immunol.* **32**:307–314.

Dentino A., Lee S., Mailhot J. ja Hefti A. (2013) Principles of periodontology. *Periodontol. 2000.* **61**:16–53.

Dripps D.J., Brandhuber B.J., Thompson R.C. ja Eisenberg S.P. (1991) Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80-kDa IL-1 receptor but does not initiate IL-1 signal transduction. *J. Biol. Chem.* **266**:10331–10336.

Falagas M.E. ja Kompoti M. (2006) Obesity and infection. *Lancet Infect. Dis.* **6**:438–446.

Fantuzzi G. (2005) Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **115**:911–919.

Fine D.H., Markowitz K. ja Furgang D. (2009) Macrophage inflammatory protein-1 α : a salivary biomarker of bone loss in a longitudinal cohort study of children at risk for aggressive periodontal disease? *J. Periodontol.* **80**:106–113.

Frodge B.D, Ebersole J.L., Kryscio R.J., Thomas M.V. ja Miller C.S. (2008) Bone remodeling biomarkers. of periodontal disease in saliva. *J. Periodontol.* **79**:1913–1919.

Genco R. ja Borgnakke W. (2013) Risk factors for periodontal disease. *Periodontol. 2000.* **62**:59–94.

Genco R.J., Grossi S.G., Ho A., Nishimura F. ja Murayma Y. (2005) A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes and periodontal infections *J. Periodontol.* **76**:2075–2084.

Graves D. (2008) Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J. Periodontol.* **79**:1585–1591.

Grossi S.G., Genco R.J., Machtei E.E., Ho A.W., Koch G., Dunford R., Zambon J.J. ja Hausmann E. (1995) Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for

alveolar bone loss. *J. Periodontol.* **66**:23–29.

Haffajee A.D. ja Socransky S.S. (2009) Relation of body mass index, periodontitis and *Tannerella forsythia*. *J. Clin. Periodontol.* **36**:89–99.

Heasman L., Stacey F., Preshaw P.M., McCracken G.I., Hepburn S. ja Heasman P.A. (2006) The effect of smoking on periodontal treatment response: a review of clinical evidence. *J. Clin. Periodontol.* **33**:241–253.

Hu S., Li Y., Wang J., Xie Y., Tjon K., Wolinsky L., Loo R.R., Loo J.A. ja Wong D.T. (2006) Human saliva proteome and transcriptome. *J. Dent. Res.* **85**:1129–33.

Humphrey S. ja Williamson R. (2001) A review of saliva: Normal composition, flow, and function.

Kershaw E. ja Flier J. (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**:2548–2556.

Kopp H.P., Kopp C.W., Festa A., Krzyzanowska K., Kriwanek S., Minar E., Roka R. ja Schernthaner G. (2003) Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **23**:1042–1047.

Krol K. (2004) Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in the pathogenesis of periodontitis. *Ann. Acad. Med. Stetin.* **50**:135–148.

Kumada M., Kihara S., Sumitsuji S., Kawamoto T., Matsumoto S., Ouchi N., Arita Y., Okamoto Y., Shimomura I., Hiraoka H., Nakamura T., Funahashi T. ja Matsuzawa Y. (2003) Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* **23**:85–89.

Lumeng C.N., Bodzin J.L. ja Saltiel A.R. (2007) Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* **117**:175–184.

Martinez-Maestre M.A., Gonzalez-Cejudo C., Machuca G., Torrejon R. ja Castelo-Branco C. (2010) Periodontitis and osteoporosis: a systematic review. *Climacteric*. **13**:523–529.

Miller G., Foley J., Bailey A., Campell C., Humphries R., Christodoulides N., Floriano P., Simmons G., Bhagwandin B., Jacobson J., Redding S., Ebersole J., ja McDevitt J. (2010) Current developments in salivary diagnostics. *Biomark. Med.* **4**:171–189.

Miller C.S., King C.P., Langub M.C., Kryscio R.J. ja Thomas M.V. (2006) Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J. Am. Dent. Assoc.* **137**:322–329.

Meng H., Ren X., Tian Y., Feng X., Xu L., Zhang L., Lu R., Shi D ja Chen Z. (2011) Genetic study of families affected with aggressive periodontitis. *Periodontol. 2000* **56**: 87–101.

Moore W.E. ja Moore L.V. (1994) The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol. 2000*. **5**:66–77.

Morelli T., Stella M., Barros S., Marchesan J., Moss K., Kim S., Yu N., Aspiras M., Ward M. ja Offenbacher S. (2014) Salivary biomarkers in a biofilm overgrowth model. *J. Periodontol.* **85**:1770–1778.

Okada H. ja Murakami S. (1998) Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **9**:248–266.

Page R., Offenbacher S., Schroeder G., Seymour G. ja Kornman K. (1997) Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol. 2000*. **14**:216–248.

Perlstein M.I. ja Bissada N.F. (1977) Influence of obesity and hypertension on the severity of periodontitis in rats. *Oral Surg Oral. Med Oral. Pathol.* **43**:707–719.

Preshaw P.M. ja Taylor J.J. (2011) How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis?" *J. Clin. Periodontol.* **38**:60–84.

Reeves A.F., Rees J.M., Schiff M. ja Hujoel P. (2006) Total body weight and waist circumference associated with chronic periodontitis among adolescents in the United States. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* **160**:894-899.

Ritchie C. (2007) Obesity and periodontal disease. *Periodontol.* **2000**. **44**:154–163.

Rocha V.Z. ja Libby P. (2009) Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nat. Rev. Cardiol.* **6**:399–409.

Scannapieco F.A., Ng P., Hovey K., Hausmann E., Hutson A. ja Wactawski-Wende J. (2007) Salivary biomarkers associated with alveolar bone loss. *Ann. NY Acad. Sci.* **1098**:496–497.

Suresh^s. ja Mahendra J.⁽²⁰¹⁴⁾ Multifactorial Relationship of Obesity and Periodontal Disease. *J. Clin. Diagn. Res.* **8**:1–3.

Suvan J., D'Aiuto F., Moles D.R., Petrie A. ja Donos N. (2011) Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obes. Rev.* **12**:381–404.

Takane M., Sugano N., Iwasaki H., Iwano Y., Shimizu N. ja Ito K. (2002) New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. *J. Periodontol.* **73**:551–554.

Taubman M.A., Kawai T. ja Han X. (2007) The new concept of periodontal disease pathogenesis requires new and novel therapeutic strategies. *J. Clin. Periodontol.* **34**:367–369.

Taylor J.J. (2013) Protein biomarkers of periodontitis in saliva. *ISRN Inflamm.* **2014**:593151.

Trayhurn P. ja Wood I.S. (2004) Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br. J. Nutr.* **92**:347–355.

Trifunovic J., Miller L., Debeljak Z. ja Horvat V. (2015) Pathologic patterns of interleukin 10 expression – A review. *Biochem. Med.* **25**:36–48.

Tsai C.C., Chen H.S., Chen S.L., Ho Y.P., Ho K.Y., Wu Y.M. ja Hung C.C. (2005) Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J.*

Periodontal. Res. **40**:378–384.

Weisberg S.P., McCann D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel R.L. ja Ferrante A.W. (2003) Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* **112**:1796–808.

Wentworth J.M., Naselli G., Brown W.A., Doyle L., Phipson B., Smyth G.K., Wabitsch M., O'Brien P.E. ja Harrison L.C. (2010) Pro-inflammatory CD11c⁺CD206⁺ adipose tissue macrophages are associated with insulin resistance in human obesity. *Diabetes* **59**:1648–1656.

Wood N., Johnson R.B. ja Streckfus C.F. (2003) Comparison of body composition and periodontal disease using nutritional assessment techniques: Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J. Clin. Periodontol.* **30**:321-327.

World Health Organization (2014) Obesity and overweight. Fact sheet No 311. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

Yoshizawa J.M., Schafer C.A., Schafer J.J., Farrel J.J., Paster B.J. ja Wong D.T. (2013) Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clin. Microbiol. Rev.* **26**:781–791.