

OPG/RANK/RANKL'İN PERİODONTOLOJİDEKİ YERİ**OPG/RANK/RANKL AXIS IN PERIODONTOLOGY****Ceren BABÜR¹****Gönen ÖZCAN²****ÖZET**

Periodontitis gingival inflamasyon ve alveoler kemik kaybı ile karakterize infeksiyöz bir hastalıktır. Bakteriyele faktörler ve proinflamatuvar molekülleri aktive eden konağın immün cevabı inflamasyonun gelişiminde en önemli rolü oynamaktadır. İmmünoloji ve kemik metabolizmasının birlikte yer almasından dolayı periodontitis etiyoijisi yeni bir interdisipliner alan olan "osteimmünoloji" başlığı altında incelenmeye başlanmıştır. OPG,RANKL ve RANK günümüzde kemik yıkımından sorumlu olduğu düşünölen moleküllerdir. RANKL, reseptörü olan ve osteoklast maturasyonunu stimüle eden RANK ile tuzak reseptör olup RANKL'ın osteoklastogenezisi indüklemesini engelleyen OPG osteoklast aktivasyonu ve fonksiyonunu düzenleyen anahtar üçlü olarak görölmektedirler. Bu üç molekülün düzeninin kronik inflamasyondaki patolojik lezyonlarda ve kemik-damar patolojilerinde önemli olduğu görölmüştür. Periodontitisli hastaların gingival dokuları ve diş eti oluğu sıvısında (DOS) sağlıklı bireylere göre yüksek seviyede RANKL olduğu saptanmıştır. Periodontal dokulardaki kaybın RANKL ekspresyonu ve fonksiyonunun bloke edilerek engellenebileceği düşünölmektedir. RANK-RANKL-OPG üçlüsünü hedefleyen biyolojik yaklaşımların periodontal hastalıkların patogenezi ve gelecekteki terapötik uygulamalarda önem kazanması için çalışmalar yapılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: OPG, RANK, RANKL, periodontal hastalık, osteimmünoloji

SUMMARY

Periodontitis is an infectious disease characterized by inflammation in gingiva and rezorption of alveolar bone. Bacterial factors and immune system of the host- mediated proinflammatory molecules- are involed in this inflammatory process. Because of involving both immunology and bone metabolism, the etiology of periodontitis is being examined in a new interdisciplinary field called "osteimmunology". Recently investigated molecules that are thought to be responsible for bone loss, are OPG, RANKL, RANK. RANKL, its receptor RANK-stimulating osteoclast maturation- and decoy receptor OPG -inhibiting RANKL to induce osteoclastogenesis- are key molecules that regulate osteoclast recruitment and function. The axis of these three molecules are critical for pathologic lesions in chronic inflammation, bone and vascular pathologies. RANKL levels in gingival tissue and gingival crevicular fluid of the patients with periodontitis are higher than those of periodontally healthy people. Therefore destruction of the periodontal tissues can be improved by blocking RANKL expression and function. Biologic approaches targeting RANK-RANKL-OPG axis seem to be a new concept over the pathogenesis of periodontal lesions and future therapeutic options.

Key Words: OPG, RANK, RANKL, periodontal disease, osteimmunology

Makale Gönderiliş Tarihi : 13.04.2009

Yayına Kabul Tarihi : 28.12.2009

¹Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, Dt.

²Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, Prof. Dr.

GİRİŞ

Periodontitis dişin destek dokularının kaybı ile karakterize inflamatuvar bir hastalıktır. Plak- biofilm ve konak immün sisteminin arasındaki dengenin bozulması, proinflamatuvar sitokinlerin salınımının artması ve ardından alveoler kemik yıkımı ile sonuçlanır.

Dentisyonun desteği olan alveoler kemiğin yıkımı, periodontal hastalıkta oldukça önemlidir. Terapötik ve koruyucu yaklaşımlar da bu kemik yıkımına yönelik olarak karşımıza çıkmaktadır, bu yüzden periodontitisin tedavisi için yıkım mekanizmasının anlaşılması büyük önem taşımaktadır.

Periodontitis etiyojisinde inflamatuvar sürecin yanında kemik metabolizmasında meydana gelen değişikliklerin yer alması immünoloji ve kemik biyolojisinin birlikte yer aldığı “osteimmünoloji” adlı interdisipliner bir alanın oluşmasına neden olmuştur^{2,3}. Günümüzde periodontitis patogenezinin anlaşılması için kemik yıkımında yer alan mediatörler ve sitokinlerin araştırılması devam etmektedir³. İnterlökin-1± (IL-1 ±), interlökin-6 (IL-6), prostoglandin E2 (PGE2), tümör nekroz faktör α (TNF- α) periodontitisli hastalarda gingivada ve dişeti oluğu sırasında yüksek miktarda tespit edilmiştir^{5,28,50,54}.

Günümüzde yapılan son araştırmalara göre kemik yapım-yıkımının kontrolünde TNF ailesine bağlı bir dizi sitokin tanımlanmıştır^{6,38,60,61,73}. Bu moleküller –RANKL, reseptörü RANK ve OPG (osteoprotegerin)- henüz tanımlanmış osteotropik faktörlerin en son etkileyicileri gibi gözükmedirler⁶⁰. RANKL, kemik rezorpsiyonunun güçlü bir stimülatörü iken OPG koruyucu olarak görev almaktadır.

Kemik yapım-yıkımının bozulduğu patolojilerde OPG-RANKL dengesizliği görülmüştür^{7,51,60}. Son çalışmalarda ise OPG/RANK/RANKL üçlüsünün immün ve vasküler sistemin kontrolünde önemli olduğu ortaya çıkmıştır^{34,51}. Bu üç molekül kemik, immün hücreler ve damarlar arasında bir etkileşim yaratarak bunlarla ilgili hastalıkların tedavisi ve korunması için yeni stratejilere yön vermektedir.

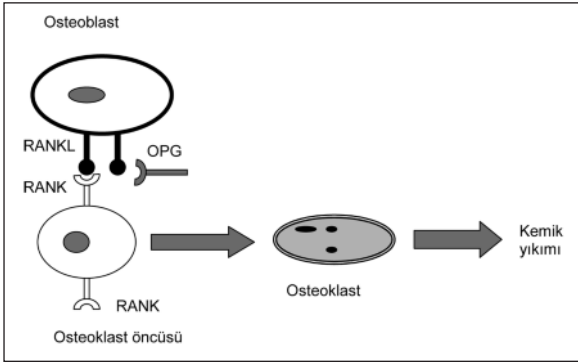
RANK osteoklastik öncü hücreler, B ve T hücreleri, dendritik hücreler ve fibroblastların dahil olduğu monosit/makrofaj sisteminde bulunur³³. RANK, RANKL tarafından aktive edilmektedir. RANK, oste-

oklastların sayıca artması ve kalsemi için preozorptif sitokinlerin salınımı ve kalsiyum tropik hormonların uyarımı açısından önem taşımaktadır.

RANKL, TNF ailesine bağlı çözümlü bir membran proteini olmakla birlikte osteoblastik hücreler ve T hücrelerince üretilip osteoklast aktivasyonunu ve farklılaşmasını stimüle ederken, osteoklast apoptozisini inhibe eder. RANK sunan osteoklast ve prekürsörleri yüzeyine RANKL bağlanması ile osteoklast farklılaşması ve aktivasyonu sağlanmaktadır⁷⁴. RANKL, RANK ile osteoklast aktivasyonu için son derece önemli olan bir etkileşime girmektedir. RANKL olmadığında kemik rezorpsiyonunun azaldığı görülmüştür³⁷. TNF reseptörlerinden çözümlü bir protein olan OPG ise, RANKL ile ters biyolojik etkilere sahip olup RANKL etkileşimini baskılayan bir inhibitör gibi davranarak osteoklastogenezde azalmaya neden olan protein olarak tanımlanmıştır^{56,73}.

Farelerde yapılan deneylerde OPG yokluğunda kemik yoğunluğu ve hacminde azalma ve kırık ve deformitelerle seyreden osteoporozisin olduğu görülmüştür^{12,75}. Bu osteoporozis intravenöz OPG enjeksiyonu ile geriye döndüğü tespit edilmiştir⁴⁴. OPG genetiği değiştirilmiş farelerde ise osteoklastogenezis inhibisyonu ile karakterize osteopetrozis görülmüştür⁵⁶. Bu veriler OPG'nin varlığının fizyolojik kemik kütlelerinin korunması için gerekli olduğunu göstermiştir.

OPG'nin bulunmasının ardından OPG'ye yüksek afinite ile bağlanan TNF sitokin ailesine üye olan bir molekül olan RANKL tanımlanmıştır^{38,74}. RANKL, dendritik hücre stimüle eden bir ajan olarak dendritik hücre ile olgun T hücreleri için yaşam faktörü rolü oynamakta ve proliferasyonlarını düzenlemektedir^{1,71}. Bu aktiviteler RANKL'ın membran reseptörü RANK'a bağlanarak aktive olmasına bağlı olduğu görülmüştür⁷². RANKL'ın kemik metabolizmasındaki rolünün anlaşılması için OPG ile benzer yaklaşımlar denenmiştir. OPG'nin tersine RANKL'da genetiği değiştirilmiş farelerde ileri düzeyde osteoporozis gözlenmiştir³⁸, RANKL olmayan farelerde ise osteoklastların tamamen yok olduğu ve osteopetrosis geliştiği görülmüştür^{18,36}. Ciddi kemik kaybı ve hiperkalsemi rekombinant RANKL ile tedavi edilen farelerde görülen ana fenotipik karakteristik



Şekil 1: Osteoklast öncü hücreleri RANKL varlığında aktive olmakta ve kemik yıkımında rol almaktadır. OPG varlığında RANKL-RANK bağlantısı engellenmekte ve osteoklast diferansiyasyonu inhibe olmaktadır.

oluşumlardır. Bu verilere göre OPG güçlü bir kemik koruyucu ajan iken RANKL, bir pre-rezorptif faktördür. İn vitro deneyler de in vivo verileri destekler niteliktedir^{1,13,16,18,36,38,44,69-74}.

Normalde kemikte, RANKL, pre osteosteoblastik hücrelerde, spesifik reseptörü RANK ise osteoklast progenitorlerinde eksprese edilir. Bu sistemde RANKL, osteoklast diferansiyasyonunda yer alarak osteoklast prekürsörlerinin hayatta kalabilmelerini sağlamaktadır^{6,38,73}. OPG ise osteoblastik hücrelerde yer alan çözünür bir faktör olup, moleküler bağlanma deneylerinde de onaylandığı üzere RANKL'ın tuzak (decoy) reseptörüdür⁵⁹. OPG, RANKL ve RANK arasındaki bağlantıyı bloke ederek osteoklastik farklılaşması ve ardından da kemik rezorpsiyonunu inhibe etmektedir^{6,38,60,73}.

Patofizyolojik olaylarda OPG ve RANKL moleküler bir denge unsuru olarak görülmeli ve ayrı ayrı ele alınmalıdır⁴. OPG-RANKL ekspresyonu kemik dokusu ile sınırlı değildir, her ikisi de farklı pek çok hücre tarafından üretilmektedirler⁶⁰. OPG immün hücreler, endotelial hücreler ve osteoblastlar tarafından üretilen çözünür bir faktördür³⁶. RANKL ise hücre membranında eksprese edildiği gibi aynı tip hücrelerce çözünür bir faktör olarak üretilir³⁶. Günümüzde RANKL'ın üç izoformu tanımlanmıştır: birincisi transmembran formu ikincisi çözünür sitokin ve üçüncüsü ise sitoplazmik moleküldür^{27,57}. Transmembran RANK, OPG ve RANKL gibi her zaman eksprese edilip fizyolojik kemik yıkımında osteoklastik bir belirleyici moleküldür⁴⁶. RANK'ın RANKL ile bağlanmak için reseptörleri bulunmaktadır²⁹. Bu

bağlanma olgun osteoklastların oluşumu için gerekli gözükmektedir.

Çok sayıda malign ve benign tümör hücrelerinde RANKL ve OPG ekspresyonu gözlenmiştir^{7,11,17,26,60,68}. Bu yüzden RANKL/OPG oranı kemik patolojileri için önem kazanmıştır. RANKL/OPG dengesi osteolitik patolojilerde RANKL lehine bozulmuştur^{20,23,65}. Bu durumlarda tümörde RANKL konsantrasyonunu dengelemek için yüksek seviyede OPG salınmaya başlamaktadır. OPG iskeletin kemik rezorpsiyonuna karşı koruma mekanizması olarak görev yapmaktadır. RANKL/OPG oranının osteoporozis, ankilozan spondilit, romatoid artrit, benign kemik tümörleri, proteze bağlı osteolizis ve kemik fraktürleri gibi malign olmayan patolojilerde prognostik biyolojik faktör olarak kullanılması araştırılmaktadır^{15,21,35,62,63}.

OPG transgenik farelerin immün fenotipi OPG/RANKL/RANK üçlüsü ve immün sistem arasındaki ilişkiyi ilk defa göstermiştir¹². OPG genetiği değiştirilmiş farelerde bozulmuş timosit gelişimi gözlenmiştir. RANKL geni bozuk olan farelerde ise lenf nodu organogenezisi eksikliği, normal splenik ve Peyer organizasyonu ve bozulmuş timosit gelişimi gözlenmiştir^{18,36}. RANK bulunmayan farelerde ise normal timik gelişim gözlenirken lenf nodu eksikliği ve B-T hücreleri maturasyonu defektler görülmüştür⁴¹. OPG/RANKL/RANK üçlüsü kemik metabolizması ve immün cevap arasında etkileşim oluşturduğu için osteoimmünoloji başlığı altında değerlendirilmeye başlanmıştır⁶⁶. Hücre migrasyonu dışında OPG/RANK/RANKL üçlüsünün inflamatuvar proseste yer aldığını gösteren veriler bulunmaktadır. Çok sayıda sitokin inflamasyonda kemiğin verdiği cevapta düzenleyici olarak yer almaktadır³⁹. Bu nedenle romatoid artrit ve periodontal hastalık gibi RANKL'ın fazla salındığı inflamatuvar hastalıklarda RANKL'ın bloke edilmesinin tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir^{31,55}.

Periodontitisin patogenezi hakkındaki araştırmalar genel olarak bakteriyel enfeksiyon üzerine yoğunlaşmışken son 20 yıldır periodontal hastalığı tetikleyen konak cevabının da gündeme gelmesiyle inflamatuvar ve immün cevapların periodontitisin patogenezinde kritik rollerinin olduğu ve konağa bağlı

intrinsek ve ekstrinsek faktörler tarafından şekillen-
dirildikleri anlaşılmıştır^{48,49,58}.

Bakteriyel enfeksiyona verilen ilk yanıt doğal bağışıklık sistemini aktive eden lokal inflamatuvar yanıt, sitokin ve mediatörlerin salınımı ve inflamasyonun gingival dokulara doğru ilerlemesi gerçekleşmektedir^{19,22}. Bu inflamasyonun gingival dokuda ilerlemesinin durdurulamaması durumunda alveoler kemik de etkilenmektedir²². İnflamasyon ilerledikçe periodontal hastalığın ana belirtilerinden olan bağ dokusu ve kemikte yıkıma neden olmaktadır.

Günümüzde periodontal hastalık patogenezi hakkındaki araştırmalar “osteoinmünoloji” başlığı altında değerlendirilmektedir. Bu şekilde periodontisteki inflamatuvar cevapta ve kemik yıkımının altında yatan mekanizmaların açıklanmasında yer alan sitokinlerin ve diğer mediatörlerin rolleri araştırılmaktadır³.

İnflamatuvar reaksiyona karşı verilen cevapta meydana gelen kemik kaybı, gingival dokulardaki inflamatuvar mediatörlerin kemik rezorpsiyonunu aktive etmek için yeterli düzeyde olmasına ve inflamatuvar mediatörlerin gingival dokuda alveoler kemiğe kritik bir uzaklıkta yerleşmiş olmasına bağlıdır²². İnflamatuvar işlev sırasında mediatörler, sitokinler (interlökin -1,-6,-11 ve -17, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), lösemi inhibitör faktör) ve kemokinler osteoblast yüzeyinde yer alan RANKL (receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand) adlı molekülün seviyesini değiştirerek periosteal osteoblastları stimüle etmektedirler^{10,40}. RANKL, osteoblastların dışında fibroblastlar ve T ve B lenfositleri gibi hücre tiplerinde de bulunabilmektedir. RANKL’in fibroblastlardaki ekspresyonu A.a (*Agregatobacter actinomycetamcomitans*) toksini (cytolethal distending toxin) ile artmakla birlikte normalde düşük seviyelerdedir⁴⁰. Aktif T ve B hücreleri periodontitisli bireylerden izole edilen dişeti dokularındaki en önemli RANKL kaynağı gibi gözükmetedir^{24,31,64}. Bir çalışmada, CD4+ T hücrelerinin periodontistide gingival dokularda baskın hücre tipi olduğu ve monositlerle dendritik hücrelere göre daha yüksek seviyede RANKL eksprese ettikleri görülmüştür⁶⁴. Benzer bir çalışmada ise T ve B hücrelerinin periodontistide diş eti dokularında baskın mononükleer hücre tipi ol-

duğu ve sağlıklı dokuya göre çok yüksek seviyede RANKL eksprese ettikleri görülmüştür³¹. B hücrelerinin kemik yıkımını uyararak için T hücrelerinin varlığına ihtiyacının olmadığı görülmüştür²⁴.

Kısaca periodontal kemik rezorpsiyonu ve formasyonu çeşitli hücrelerde bulunan RANKL, osteoklast öncü hücrelerinde bulunan RANKL reseptörü RANK ve çözünür tuzak reseptörü OPG tarafından düzenlenmektedir. RANKL seviyesi yükseldiğinde, osteoklast öncülerindeki RANK ile bağlanarak, dengeyi osteoklast formasyonu ile kemik rezorpsiyonu lehine değiştirmektedir¹⁰. Makrofaj koloni stimüle edici faktör varlığında CFU-M de RANKL’ın RANK’a bağlanması ile preosteoklastlar matür osteoklastlara dönüşecek olan multinükleer hücrelere farklılaşmaktadır³. OPG konsantrasyonları RANKL konsantrasyonuna göre yüksek oldu zaman OPG RANKL a balanarak RANK ile bağlanmasına engel olmaktadır. RANKL’ın RANK ile bağlanmasının engellenmesi ile osteoklast oluşumunu azaltırken osteoklast apoptozisine neden olmaktadır¹⁰.

Normal fizyolojik koşullar altında kemik oluşumu ve yıkımı arasında bir denge bulunmaktadır¹⁰. Belli patolojik durumlarda ise denge değişebilir; osteopetrosiste kemik oluşumu artarken periodontitis ve osteoporoz durumlarında yıkımda artış gösterebilir^{40,53}. Kemik yapımının artışı RANKL/OPG oranının düşmesi olarak da açıklanan OPG seviyesinin yükselmesi veya RANKL seviyesinin azalması sonucu meydana gelmektedir. Tam tersine RANKL/OPG oranının yükselmesi olarak da bilinen OPG seviyesinin düşmesi ve RANKL seviyesinin yükselmesi durumunda patolojik kemik yıkımı oluşmaktadır⁹.

İnflamatuvar cevap esnasında IL-1 β , -6, -11, -17 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler, osteoblast ve stromal hücrelerdeki OPG üretimini azaltıp RANKL ekspresyonunu artırarak osteoklastogenezisi indüklemektedir⁴⁷. Tersine IL-3 ve IFN- γ gibi antiinflamatuvar mediatörler RANKL ekspresyonu azaltarak veya OPG seviyesini yükselterek osteoklastogenezisi engellemektedir⁴⁷.

Çok sayıda çalışmada periodontitisli bireyden alınan dişeti oluğu sıvısı (DOS) ve dişeti dokularında RANKL/OPG oranı ve konsantrasyonu değerlendirilmiştir^{8,9,14,31,43,45,67}.

Bazı çalışmalarda periodontitisli bireylerde OPG seviyesinde farklılık olmaksızın sRANKL seviyesinin sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu görülmüştür^{31,67}. Resiprokal olarak OPG'nin düşük seviyede olup RANKL seviyesinin hastalıklı gingival dokularda yükseldiği çalışmalar da bulunmaktadır¹⁴. Periodontal hastalıkta RANKL/OPG oranındaki artış DOS'ta olduğu kadar dokularda da görülmüştür. OPG ve RANKL oranları çalışmadan çalışmaya değişkenlik gösterse de genel olarak periodontitisli gruplarda sağlıklı kontrollere göre RANKL/OPG oranının yüksek seviyede olduğu görülmüştür^{8,14,31,43,45,67}. Bu bulgular RANKL'in osteoklastogenezisteki etkinliğini doğrulamaktadır.

Tüm bulgulara göre RANKL/OPG oranının yükselmesi periodontal hastalığın ciddiyeti ile ilişkili olabileceği görülmüştür. RANKL/OPG oranının DOS'ta gingivitisli ve sağlıklı bireylere göre agresif periodontitisli ve immünsüpresif tedavi gören veya görmeyen kronik periodontitisli bireylerde daha yüksek seviyede olduğu bulunmuştur⁸. Periodontal hastalıkta bu oranının yükseldiği aynı hasta grubunda doku örneklerinde de doğrulanmıştır⁹. Benzer bir çalışmada doku örneklerinde yapılan incelemede sağlıklı bireylere göre orta derecede ve ilerlemiş periodontitiste RANKL/OPG oranı yüksek olarak kaydedilmiştir⁴². Periodontal hastalıkta bu oran yüksek çıkmasına rağmen periodontitis tiplerinde değişiklik göstermeyebileceği görülmüştür⁴⁵.

Kemik kaybı ve belki de hastalığın şiddeti ile dişeti dokusunda ve DOS'ta artan RANKL/OPG oranı ile RANK-RANKL-OPG üçlüsünün temel tedavi yaklaşımındaki yeri tartışmalıdır. İstenilen sonuç kemik yapının yıkıma eşit olduğu OPG seviyesinin yükselirken RANKL seviyesinin azaldığı, RANKL/OPG oranının dengede olduğu durumdur. RANK-RANKL-OPG üçlüsünün dengesi dengesinin araştırılması erken aşamada olmasına rağmen osteoprotegerin füzyon proteininin ve RANK'a bağlı osteoklastogenezis inhibitörlerinin periodontal hastalıkla ilgili kemik kaybına ve RANK-RANKL-OPG üçlüsüne etkilerine ilişkin çalışmalar yapılmaktadır^{25,30,32,52}.

Periodontal hastalıkların tedavisi için yeni stratejiler arasında immün efektör hücre kaynaklı

RANKL'ın aktivitesini inhibe ederek doku hasarının düzeltilmesi için RANKL'a bağlı olarak kemik kaybı olan periodontal hastalıkların tanısında DOS'ta RANKL/OPG oranının ölçülmesinin önemini tanımlamak için daha ayrıntılı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Periodontitis tedavisi ve diagnozu için RANKL-RANK birleşiminin ve ardından osteoklastogenezisin OPG ile fizyolojik olarak engellenmesi stratejisi çok önemli gözükmeyle birlikte bunun için daha fazla çalışmaya gerek duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, Teepe MC, DuBose RF, Cosman D, Galibert L. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 390: 175-179, 1997.
2. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature* 408: 535-536, 2000.
3. Bar-Shavit Z. The osteoclast: a multinucleated, hematopoietic-origin, bone-resorbing osteoimmune cell. *J Cell Biochem* 102: 1130-1139, 2007.
4. Baud'huin M, Lamoureux F, Duplomb L, Redini F, Heymann D. RANKL, RANK, osteoprotegerin: key partners of osteoimmunology and vascular diseases. *Cell Mol Life Sci* 64: 2334-2350, 2007.
5. Bickel M, Axtelius B, Solioz C, Attstrom R. Cytokine gene expression in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 28: 840-847, 2001.
6. Blair JM, Zheng Y, Dunstan CR. RANK ligand. *Int J Biochem Cell Biol* 39: 1077-1081, 2007.
7. Blair JM, Zhou H, Seibel MJ, Dunstan CR. Mechanisms of disease: roles of OPG, RANKL and RANK in the pathophysiology of skeletal metastasis. *Nat Clin Pract Oncol* 3: 41-49, 2006.
8. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Toz H, Atilla G, Hughes FJ, and Belibasakis GN. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol* 34: 370-376, 2007.
9. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Toz H, Berdeli A, Atilla G, McKay IJ, Hughes FJ, Belibasakis GN. Differential expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin mRNA in periodontal diseases. *J Periodontol Res* 42: 287-293, 2007.
10. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 423: 337-342, 2003.
11. Brown JM, Vessella RL, Kostenuik PJ, Dunstan CR, Lange PH, Corey E. Serum osteoprotegerin levels are increased in patients with advanced prostate cancer. *Clin Cancer Res* 7: 2977-2983, 2001.
12. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 12: 1260-1268, 1998.

13. Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, Ring BD, Van G, Capparelli C, Kelley M, Hsu H, Boyle WJ, Dunstan CR, Hu S, Lacey DL. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 145: 527-538, 1999.
14. Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, Ahern MJ, Haynes D. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontol Res* 38: 380-387, 2003.
15. D'Amore M, Fanelli M, D'Amore S, Fontana A, Minenna G. Receptor activator of NF(Kappa)B ligand/osteoprotegerin (RANKL/OPG) system and osteopontin (OPN) serum levels in a population of apulian postmenopausal women. *Panminerva Med* 48: 215-221, 2006.
16. Darnay BG, Haridas V, Ni J, Moore PA, Aggarwal BB. Characterization of the intracellular domain of receptor activator of NF-kappaB (RANK). Interaction with tumor necrosis factor receptor-associated factors and activation of NF-kappaB and c-Jun N-terminal kinase. *J Biol Chem* 273: 20551-20555, 1998.
17. Dougall WC, Chaisson M. The RANK/RANKL/OPG triad in cancer-induced bone diseases. *Cancer Metastasis Rev* 25: 541-549, 2006.
18. Fata JE, Kong YY, Li J, Sasaki T, Irie-Sasaki J, Moorehead RA, Elliott R, Scully S, Voura EB, Lacey DL, Boyle WJ, Khokha R, Penninger JM. The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell* 103: 41-50, 2000.
19. Garlet GP, Cardoso CR, Silva TA, Ferreira BR, Avila-Campos MJ, Cunha FQ, Silva JS. Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors. *Oral Microbiol Immunol* 21: 12-20, 2006.
20. Giuliani N, Bataille R, Mancini C, Lazzaretti M, Barille S. Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment. *Blood* 98: 3527-3533, 2001.
21. Granchi D, Pellacani A, Spina M, Cenni E, Savarino LM, Baldini N, Giunti A. Serum levels of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand as markers of periprosthetic osteolysis. *J Bone Joint Surg Am* 88: 1501-1509, 2006.
22. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 74: 391-401, 2003.
23. Grimaud E, Soubigou L, Couillaud S, Coipeau P, Moreau A, Pasuti N, Gouin F, Redini F, Heymann D. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) ratio is increased in severe osteolysis. *Am J Pathol* 163: 2021-2031, 2003.
24. Han X, Kawai T, Eastcott JW, Taubman MA. Bacterial-responsive B lymphocytes induce periodontal bone resorption. *J Immunol* 176: 625-631, 2006.
25. Han X, Kawai T, Taubman MA. Interference with immune-cell-mediated bone resorption in periodontal disease. *Periodontol* 2000 45: 76-94, 2007.
26. Holen I, Shipman CM. Role of osteoprotegerin (OPG) in cancer. *Clin Sci (Lond)* 110: 279-291, 2006.
27. Ikeda T, Kasai M, Utsuyama M, Hirokawa K. Determination of three isoforms of the receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and their differential expression in bone and thymus. *Endocrinology* 142: 1419-1426, 2001.
28. Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Ohguchi M, Koide M, Ueda N, Amano K, Noguchi T. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J Periodontol Res* 32: 524-529, 1997.
29. Iwamoto K, Miyamoto T, Sawatani Y, Hosogane N, Hamaguchi I, Takami M, Nomiyama K, Takagi K, Suda T. Dimer formation of receptor activator of nuclear factor kappaB induces incomplete osteoclast formation. *Biochem Biophys Res Commun* 325: 229-234, 2004.
30. Jin Q, Cirelli JA, Park CH, Sugai JV, Taba M, Jr., Kostenuik PJ, Giannobile WV. RANKL inhibition through osteoprotegerin blocks bone loss in experimental periodontitis. *J Periodontol* 78: 1300-1308, 2007.
31. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, Makihiro S, Seki M, Karimbux NY, Goncalves RB, Valverde P, Dibart S, Li YP, Miranda LA, Ernst CW, Izumi Y, Taubman MA. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol* 169: 987-998, 2006.
32. Kawai T, Paster BJ, Komatsuzawa H, Ernst CW, Goncalves RB, Sasaki H, Ouhara K, Stashenko PP, Sugai M, Taubman MA. Cross-reactive adaptive immune response to oral commensal bacteria results in an induction of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL)-dependent periodontal bone resorption in a mouse model. *Oral Microbiol Immunol* 22: 208-215, 2007.
33. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 142: 5050-5055, 2001.
34. Kiechl S, Werner P, Knoflach M, Furtner M, Willeit J, Schett G. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 4: 801-811, 2006.
35. Kim HR, Kim HY, Lee SH. Elevated serum levels of soluble receptor activator of nuclear factors-kappaB ligand (sRANKL) and reduced bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis (AS). *Rheumatology (Oxford)* 45: 1197-1200, 2006.
36. Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, Capparelli C, Li J, Elliott R, McCabe S, Wong T, Campagnuolo G, Moran E, Bogoch ER, Van G, Nguyen LT, Ohashi PS, Lacey DL, Fish E, Boyle WJ, Penninger JM. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 402: 304-309, 1999.
37. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliveira-dos-Santos AJ, Van G, Itie A, Khoo W, Wakeham A, Dunstan CR, Lacey DL, Mak TW, Boyle WJ, Penninger JM. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 397: 315-323, 1999.
38. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 93: 165-176, 1998.
39. Lee SK, Lorenzo J. Cytokines regulating osteoclast formation and function. *Curr Opin Rheumatol* 18: 411-418, 2006.
40. Lerner UH. Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res* 85: 596-607, 2006.

41. Li J, Sarosi I, Yan XQ, Morony S, Capparelli C, Tan HL, McCabe S, Elliott R, Scully S, Van G, Kaufman S, Juan SC, Sun Y, Tarpley J, Martin L, Christensen K, McCabe J, Kostenuik P, Hsu H, Fletcher F, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 1566-1571, 2000.
42. Liu D, Xu JK, Figliomeni L, Huang L, Pavlos NJ, Rogers M, Tan A, Price P, Zheng MH. Expression of RANKL and OPG mRNA in periodontal disease: possible involvement in bone destruction. *Int J Mol Med* 11: 17-21, 2003.
43. Lu HK, Chen YL, Chang HC, Li CL, Kuo MY. Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 41: 354-360, 2006.
44. Min H, Morony S, Sarosi I, Dunstan CR, Capparelli C, Scully S, Van G, Kaufman S, Kostenuik PJ, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med* 192: 463-474, 2000.
45. Mogi M, Otogoto J, Ota N, Togari A. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Dent Res* 83: 166-169, 2004.
46. Nakagawa N, Kinoshita M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Yano K, Morinaga T, Higashio K. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 253: 395-400, 1998.
47. Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H, Sakai H. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 275: 768-775, 2000.
48. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1: 821-878, 1996.
49. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000 14: 9-11, 1997.
50. Rasmussen L, Hanstrom L, Lerner UH. Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 27: 41-52, 2000.
51. Rogers A, Eastell R. Circulating osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor kappaB ligand: clinical utility in metabolic bone disease assessment. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 6323-6331, 2005.
52. Rogers JE, Li F, Coatney DD, Otremba J, Kriegl JM, Protter TA, Higgins LS, Medicherla S, Kirkwood KL. A p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor arrests active alveolar bone loss in a rat periodontitis model. *J Periodontol* 78: 1992-1998, 2007.
53. Saitenberg-Kermanach N, Cohen-Solal M, Bessis N, De Vernejoul MC, Boissier MC. Role for osteoprotegerin in rheumatoid inflammation. *Joint Bone Spine* 71: 9-13, 2004.
54. Schenkein HA, Gunsolley JC, Best AM, Harrison MT, Hahn CL, Wu J, Tew JG. Antiphosphorylcholine antibody levels are elevated in humans with periodontal diseases. *Infect Immun* 67: 4814-4818, 1999.
55. Schett G, Hayer S, Zwerina J, Redlich K, Smolen JS. Mechanisms of Disease: the link between RANKL and arthritic bone disease. *Nat Clin Pract Rheumatol* 1: 47-54, 2005.
56. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89: 309-319, 1997.
57. Suzuki J, Ikeda T, Kuroyama H, Seki S, Kasai M, Utsuyama M, Tatsumi M, Uematsu H, Hirokawa K. Regulation of osteoclastogenesis by three human RANKL isoforms expressed in NIH3T3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 314: 1021-1027, 2004.
58. Taubman MA, Kawai T, Han X. The new concept of periodontal disease pathogenesis requires new and novel therapeutic strategies. *J Clin Periodontol* 34: 367-369, 2007.
59. Theoleyre S, Wittrant Y, Couillaud S, Vusio P, Berreur M, Dunstan C, Blanchard F, Redini F, Heymann D. Cellular activity and signaling induced by osteoprotegerin in osteoclasts: involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and MAPK. *Biochim Biophys Acta* 1644: 1-7, 2004.
60. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, Heymann D. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev* 15: 457-475, 2004.
61. Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, Higashio K. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 234: 137-142, 1997.
62. Vanderborgh A, Linsen L, Thewissen M, Geusens P, Raus J, Stinissen P. Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand mRNA expression in patients with rheumatoid arthritis and healthy controls. *J Rheumatol* 31: 1483-1490, 2004.
63. Veigl D, Niederlova J, Krystufkova O. Periprosthetic osteolysis and its association with RANKL expression. *Physiol Res* 56: 455-462, 2007.
64. Vernal R, Dutzan N, Hernandez M, Chandia S, Puente J, Leon R, Garcia L, Del Valle I, Silva A, Gamonal J. High expression levels of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand associated with human chronic periodontitis are mainly secreted by CD4+ T lymphocytes. *J Periodontol* 77: 1772-1780, 2006.
65. Voskaridou E, Terpos E. Osteoprotegerin to soluble receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand ratio is reduced in patients with thalassaemia-related osteoporosis who receive vitamin D3. *Eur J Haematol* 74: 359-361, 2005.
66. Walsh MC, Kim N, Kadono Y, Rho J, Lee SY, Lorenzo J, Choi Y. Osteoimmunology: interplay between the immune system and bone metabolism. *Annu Rev Immunol* 24: 33-63, 2006.
67. Wara-aswapati N, Surarit R, Chayasadam A, Boch JA, Pitiphat W. RANKL upregulation associated with periodontitis and Porphyromonas gingivalis. *J Periodontol* 78: 1062-1069, 2007.
68. Wittrant Y, Theoleyre S, Chipoy C, Padrines M, Blanchard F, Heymann D, Redini F. RANKL/RANK/OPG: new therapeutic targets in bone tumours and associated osteolysis. *Biochim Biophys Acta* 1704: 49-57, 2004.
69. Wittrant Y, Theoleyre S, Couillaud S, Dunstan C, Heymann D, Redini F. Regulation of osteoclast protease expression by RANKL. *Biochem Biophys Res Commun* 310: 774-778, 2003.
70. Wittrant Y, Theoleyre S, Couillaud S, Dunstan C, Heymann D, Redini F. Relevance of an in vitro osteoclastogenesis system to study receptor activator of NF-kB ligand and osteoprotegerin biological activities. *Exp Cell Res* 293: 292-301, 2004.

71. Wong BR, Josien R, Lee SY, Sauter B, Li HL, Steinman RM, Choi Y. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J Exp Med* 186: 2075-2080, 1997.
72. Wong BR, Josien R, Lee SY, Vologodskaja M, Steinman RM, Choi Y. The TRAF family of signal transducers mediates NF-kappaB activation by the TRANCE receptor. *J Biol Chem* 273: 28355-28359, 1998.
73. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N, Sato Y, Goto M, Yamaguchi K, Kuriyama M, Kanno T, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 139: 1329-1337, 1998.
74. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinoshita M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 3597-3602, 1998.
75. Yun TJ, Tallquist MD, Aicher A, Rafferty KL, Marshall AJ, Moon JJ, Ewings ME, Mohaupt M, Herring SW, Clark EA. Osteoprotegerin, a crucial regulator of bone metabolism, also regulates B cell development and function. *J Immunol* 166: 1482-1491, 2001.

Yazışma Adresi

Dt. Ceren BABÜR

Gazi Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı, Ankara
e-posta: cerenbabur@yahoo.com