



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

**DOKTORA
TEZİ**

**DIŞETİ BÜYÜMELERİNDE ETKİLİ OLAN OLAN
TNF- α , FRAKTALKİN VE TGF- β KEMOKİN
SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

NAZİFE HAMURCU

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

MART 2021



**DİŞETİ BÜYÜMELERİNDE ETKİLİ OLAN OLAN TNF- α , FRAKTALKİN VE TGF- β
KEMOKİN SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Nazife HAMURCU

DOKTORA TEZİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nazife Hamurcu

10/03/2021

DİŞETİ BÜYÜMELERİNDE ETKİLİ OLAN TNF- α FRAKTALKİN VE TGF- β KEMOKİN SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

Nazife HAMURCU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2021

ÖZET

Bu tez projesinde amacımız plağa ve ilaç (amlodipine) kullanımına bağlı dişeti büyümesi gözlenen hastalara ait DOS ve dişeti dokularında fraktalkin seviyesinin varlığını değerlendirmek, TNF- α , fraktalkin ve TGF- β seviyelerinin tespit edilerek, bu bulguların birbirleri ve klinik periodontal parametreler ile ilişkisini incelemektir. Bu çalışma dişeti büyümelerinde DOS' ta ve dişeti dokusunda fraktalkinin incelendiği ilk çalışmadır. Plağa bağlı dişeti büyümesi olan (P) 17, ilaç (Amlodipine) kullanımına bağlı dişeti büyümesi olan (İ) 18, kontrol grubu (K) olarak sistemik olarak sağlıklı, dişeti büyümesi olmayan, estetik kuron boyu uzatma tanısı konulan 10 birey olmak üzere toplam 45 birey çalışmaya dahil edildi. Periodontal sağlık durumunu belirlemek amacıyla plak indeksi (Pİ), gingival indeks, (Gİ), sondlama cep derinliği (CD), sondlamada kanama indeksi (SK), klinik ataşman seviyesi, (KAS), dişeti büyüme indeksi (DBİ) ölçümleri yapıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerden DOS ve doku örnekleri toplandı. DOS örneklerindeki TNF- α , fraktalkin, TGF- β konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla ELİSA, doku örneklerinde Real-Time qPCR yöntemi kullanıldı. Yapılan istatistik analiz sonucunda doku fraktalkin ve TNF- α seviyesi P grubunda İ grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p<0,05$). DOS' da İ grubu TNF- α seviyesi K grubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edildi. Tüm ağız P ve İ gruplarına ait Pİ, Gİ, CD, SK, DBİ değerleri ortalaması kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p>0,05$). Örneklem bölgesi Pİ ortalamasının P grubunda İ ve K gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptandı. Örneklem bölgesi; P ve İ gruplarına ait Gİ, CD, SK, DBİ değerleri ortalaması K grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiştir ($p>0,05$). DOS' da P grubunda TNF- α ile TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,770$), TNF- α ile Fraktalkine seviyeleri arasında ($r=0,745$), TGF- β ile Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,647$) arasında pozitif yönde güçlü korelasyon gözlenmektedir. Doku TNF- α ile TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,697$), TNF- α ile Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,689$), TGF- β ile fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon gözlenmektedir ($r=0,903$) ($p<0,05$). İ grubunda; doku TNF- α - TGF- β ($r=0,773$), TGF- β ile fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir ($r=0,762$) ($p<0,05$). Çalışmamızda K grubuna göre P grubunda doku örneklerinde gözlenen artmış fraktalkin ve TNF- α düzeyi fraktalkinin dişeti büyümesinde ve periodontal hastalıklarda enflamasyonda rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Bilim Kodu : 1048

Anahtar Kelimeler : TNF- α , fraktalkin, TGF- β , dişeti büyümesi, dişeti oluşu sıvısı, qPCR

Sayfa Adedi : 193

Danışman : Prof. Dr. F. Deniz Çetiner

EVALUATION OF TNF- α FRACTALKINE AND TGF- β CHEMOKIN LEVELS EFFECTIVE ON GINGIVAL OVERGROWTH

(Ph. D. Thesis)

Nazife HAMURCU

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

March 2021

ABSTRACT

Our aim in this thesis project is to evaluate the presence of fractalkine levels in DOS and gingival tissues of patients with gingival overgrowth plaque-induced and drug-induced (amlodipine), to determine TNF- α , fractalkine and TGF- β levels, and to examine the relationship between these findings and clinical periodontal parameters. This study is the first study investigating the fractalkine in gingival overgrowth and gingival tissue. A total of 45 individuals with plaque-induced gingival overgrowth (P) 17, drug (Amlodipine) induced gingival overgrowth (I) 18, control group (K) systemically healthy, without gingival overgrowth, 10 with aesthetic crown lengthening the individual was included in the study. Plaque index (PI), gingival index, (GI), pocket depth (CD), probe bleeding index (SC), clinical attachment level (CAS), gingival overgrowth index (DBI) were measured to determine the periodontal health status. DOS and tissue samples were collected from all individuals included in the study. ELISA was used to determine the concentration of TNF- α , fractalkine, and TGF- β in DOS samples, and Real-Time qPCR method was used in tissue samples. As a result of the statistical analysis, tissue fractalkine and TNF- α levels were found to be significantly higher in the P group compared to the I group ($p < 0.05$). TNF- α level in group I was found to be significantly lower than group K in DOS. The mean PI, GI, CD, SK, DBI values of all mouth P and I groups were found to be significantly higher than the control group ($p > 0.05$). It was found that the mean PI in the sample area was significantly higher in the P group compared to the I and K groups. Sampling area; The mean GI, CD, SK and DBI values of the P and I groups were found to be significantly higher than the K group ($p > 0.05$). Strong positive correlation between TNF- α and TGF- β levels ($r = 0.770$), TNF- α and Fractalkine levels ($r = 0.745$), and TGF- β and Fractalkin levels ($r = 0.647$) in P group in DOS is observed. A strong positive correlation is observed between tissue TNF- α and TGF- β levels ($r = 0.697$), between TNF- α and Fractalkine levels ($r = 0.689$), and between TGF- β and fractalkine levels ($r = 0.903$) ($p < 0.05$). In group I; There is a strong positive correlation between tissue TNF- α - TGF- β ($r = 0.773$), TGF- β and fractalkine levels ($r = 0.762$) ($p < 0.05$). In our study, the increased fractalkine and TNF- α levels observed in tissue samples in the P group compared to the K group suggest that fractalkine may play a role in gingival overgrowth and inflammation in periodontal diseases.

Science Code : 1048

Key Words : TNF- α , Fractalkine, TGF- β , gingival overgrowth, gingival crevicular fluid, qPCR

Page Number : 193

Advisor : Prof. Dr. F. Deniz Çetiner

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca klinik ve akademik bilgi ve tecrübeleriyle bana katkı sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Deniz Çetiner' e,

Yardımları ve desteği ile her daim yanımda olan, tecrübeleriyle yol gösteren Sayın Prof. Dr. Mehmet Yalın' a,

Bilgi ve tecrübeleriyle destek veren Sayın Doç. Dr. Ahu Uraz' a

Tezimin laboratuvar çalışmalarını gerçekleştiren Sayın Doç. Dr. Rahşan Ilıkçı Sağkan' a,

Tezimin istatistik çalışmasını gerçekleştiren çok değerli Sayın Prof. Dr. Serpil Cula' ya,

Doktora eğitimime başladığım andan itibaren tüm sevinçlerimizi ve sıkıntılarımızı birlikte yaşadığımız çok sevgili arkadaşlarım başta Dt. Ezgi Sıla Taşkaldıran olmak üzere; Dt. Kemal Binici, Dt.Özkan Özkoçer, Uzm. Dt. Başak Karasu, Uzm. Dt. Samet Tunç, Dt. Alican Baran, Dt. Habibe Akkale, Dt. Ayaz Enver, Dt. Göktuğ Eberliköse, Dt.Janset Şengül, Dt.Cansu Gürsoy, Dt.Tolga Berat Topal, Dt.Gökay Tekcam, Dt.Hasan Tezel, Dt.İsmail Furkan Acar ve sayamadığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Geçte olsa doktora eğitimeme başlamamda bana cesaret veren ve destek olan arkadaşlarım Dt. Kağan Pakbeşe, Uzm. Dr. İlksen Dönmez ve Op. Dr. Emel Başkan' a

Hayatım boyunca manevi desteklerini esirgemeyen ve tüm zorluklara birlikte göğüs gerdiğimiz AİLEM' e, annem Neriman Hamurcu ve babam Yusuf Ziya Hamurcu' ya,

Aramızdan çok erken ayrılan, varlığını kalbimin derinliklerinde her daim hissettiğim canım kardeşim Beste Senem Akca ve bizlere bıraktığı emaneti Berkay' a,

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından “ 03/2019.08” proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvi
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Periodontal hastalık tanımı	3
2.2. Periodontal Ve Peri-İmplant Hastalıklar ve Durumların Sınıflandırılması.....	3
2.2.1. Periodontal sağlık ve dişeti sağlığı	5
2.2.2. Gingivitis dental plağa bağlı olan.....	6
2.2.3. Gingival hastalıklar- Dental plağa bağlı olmayan.....	7
2.2.4. Periodontitis	7
2.3.Periodontal Hastalık Patogenezi	8
2.4. İlaça Bağlı Dişeti Büyümesi.....	13
2.4.1. İlaça bağlı dişeti büyümelerinin prevelansı	15
2.4.2. İlaça bağlı dişeti büyümelerinin risk faktörleri	16
2.4.3. Dişeti bağ dokusu homeostazisinde meydana gelen ilaca bağlı değişimler..	19
2.4.4. İlaça bağlı dişeti büyümesinin klinik karakteristik özellikleri.....	21
2.4.5. İlaça bağlı dişeti büyümelerinin histolojik özellikleri.....	22

	Sayfa
2.4.6. İlaça bağlı dişeti büyümesinin patogenezi:.....	24
2.5. Dişeti Büyümlerine Neden Olan İlaçlar	28
2.5.1. Kalsiyum kanal blokörleri.....	28
2.5.2. Kimyasal yapılarına göre sınıflandırma	28
2.5.3. Farmakolojik özellikleri	29
2.5.4. Kalsiyum kanal blokörlerinin yan etkileri	30
2.6.Amlodipin	30
2.6.1. Amlodipin farmakokinetiği	31
2.6.2. Amlodipin'in endikasyonları	31
2.6.3. Amlodipinin yan etkileri.....	32
2.6.4. Amlodipine bağlı dişeti büyümesi	33
2.7. Sitokinler ve kemokinler.....	35
2.7.1.Sitokinler.....	35
2.7.2.Kemokinler.....	38
2.8. Sitokinler ve İlaça Bağlı Dişeti Büyümesi	42
2.8.1. TNF- α	43
2.8.2. Fraktalkin	47
2.8.3. TGF- β	55
2.9.Dişeti Büyümlerinin Teşhisinde Dişeti Oluğu Sıvısı	60
2.10. Polimeraz zincir reaksiyonu.....	62
2.11. Dişeti Büyüme İndeksleri.....	63
3.GEREÇ VE YÖNTEM	69
3.1. Hasta Seçimi	69
3.1.1.Çalışmaya dahil edilme kriterleri	69
3.1.2.Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri.....	70

	Sayfa
3.2.Çalışma grupları.....	70
3.3.Çalışma Planı	70
3.4.Periodontal Değerlendirme (Klinik İndeksler ve Ölçümler)	71
3.4.1. Plak indeksi	72
3.4.2. Gingival indeks.....	72
3.4.3. Sondlama cep derinliği	73
3.4.4. Sondlamada kanama indeksi	73
3.4.5. Klinik ataşman seviyesi	73
3.4.6. Dişeti büyüme indeksi	74
3.5.Örneklerin Toplanması.....	75
3.5.1. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Toplanması.....	75
3.5.2 Gingival doku örneklerinin toplanması.....	76
3.6.Biyokimyasal Analizler.....	77
3.6.1. DOS örneklerinin Laboratuvar Çalışmaları	77
3.6.2.Gingival Doku Örneklerinin PCR Analizi	80
3.7. İstatistiksel Yöntem	84
4.BULGULAR	87
4.1. Demografik Bulgular	87
4.2. Klinik Bulgular.....	89
4.2.1.Tüm ağız klinik periodontal bulgular	89
4.2.2. Örneklem Bölgesi Klinik Periodontal Bulgular	91
4.3.Laboratuvar bulguları.....	94
4.3.1 Dişeti oluğu sıvısında TNF- α , TGF- β , FRAKTALKİN sitokin seviyeleri	94
4.3.2. Gingival doku örneklerinde TNF- α , TGF- β , FRAKTALKİN sitokin seviyeleri ...	97
4.4.Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Korelasyon Analizleri	99

	Sayfa
5.TARTIŞMA	109
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	141
KAYNAKLAR	145
EKLER.....	183
EK-1. Etik Kurul Karar Formu	184
EK-2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu.....	188
EK-3. Anamnez Formu	190
EK-4. Periodontal İndeks Formu.....	191
ÖZGEÇMİŞ	192

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Kalsiyum kanal blokörlerinin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması	28
Çizelge 2.2. Bağışıklık tepkisine göre sitokinlerin sınıflandırılması	36
Çizelge 2.3. Sitokinlerin fonksiyonları	37
Çizelge 2.4. Kemokin aileleri	41
Çizelge 3.1. cDNA sentezi için kullanılan mastermix bileşenleri	81
Çizelge 3.2. cDNA mastermix üzerine eklenen bileşenler	82
Çizelge 3.3. cDNA sentez reaksiyon koşulları.....	82
Çizelge 3.4. qPCR reaksiyonunda kullanılan primerler	83
Çizelge 3.5. Real-Time qPCR için kullanılan MasterMix bileşenleri	83
Çizelge 3.6. Real-Time qPCR reaksiyon koşulları.....	83
Çizelge 4.1. P, İ ve K gruplarında yaş ortalamalarının dağılımı	87
Çizelge 4.2. P, İ ve K gruplarında cinsiyetlerin karşılaştırılması	88
Çizelge 4.3. P, İ ve K gruplarında tüm ağız klinik parametrelerinin karşılaştırılması	90
Çizelge 4.4. Örneklem bölgesi klinik ölçümlerin karşılaştırmaları	92
Çizelge 4.5. DOS' da TNF- α , TGF- β , FRAKTALKİN seviyeleri	95
Çizelge 4.6. Doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyeleri	97
Çizelge 4.7. P grubu tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri.....	101
Çizelge 4.8. P grubu örneklem bölgesi tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri.....	102
Çizelge 4.9. İ grubu tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri.....	104
Çizelge 4.10. İ grubu örneklem bölgesi klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri.....	105
Çizelge 4.11. K grubu tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri...	107

Çizelge**Sayfa**

Çizelge 4.12. K grubu örneklem bölgesi klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri.....	108
---	-----



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Periodontitis patogenezi	8
Şekil 2.2. Konak cevabının yeni başlayan bir dysbiosis (gingivitis) tetiklediği periodontitis patogenezinde güncel konak-mikrobiyal etkileşim modeli	10
Şekil 2.3. İlaça bağlı dişeti büyümelerinde risk faktörleri	19
Şekil 2.4. Yara iyileşmesi ve enflamasyon sırasında dişetinden salınan çeşitli moleküller	24
Şekil 2.5. İlaça bağlı dişeti büyümesinde enflamatuar ve enflamatuar olmayan mekanizmalar	26
Şekil 2.6. Amlodipin besilatın açık kimyasal formülü	30
Şekil 2.7. Amlodipine bağlı dişeti büyümesinin mekanizması	34
Şekil 2.8. TNF reseptörü (TNFR1), TNFR2 ve FAS sinyal transdüksiyon yollarının uç bileşenleri ve programlı hücre ölüm inhibisyonu ve enflamasyon aktivasyonu ile ilişkileri	45
Şekil 2.9. TNF- α sinyal yolunun TNFR1' den transkripsiyon faktörü AP1 ve NF κ B ye kadar olan bileşenlerinin şeması	45
Şekil 2.10. Fraktalkinin şematik yapısı	47
Şekil 2.11. Fraktalkin yapısı ve bölünmesinin şematik gösterimi	48
Şekil 2.12. CX3CR1 reseptörünün yapısı	49
Şekil 2.13. Adezyon yolağında klasik ve fraktalkin aracılı yolların şematik modeli	50
Şekil 2.14. Fraktalkinin biyolojik fonksiyonları	51
Şekil 2.15. CX3CR1 sinyal iletimi	55
Şekil 2.16. TGF- β Sinyal iletimi	59
Şekil 2.17. TGF- β ' nin fibroblast fenotipi ve işlevi üzerindeki etkileri	60
Şekil 2.18. Alt ve üst ön dişlerin gingival ünitelere bölünmesi	64
Şekil 2.19. Bir gingival ünite de labio lingual yönde gingival kalınlaşmanın ölçüm kriterleri	64
Şekil 2.20. Bir gingival ünite de komşu diş yüzeylerinde gingival yükselme kriterleri	65

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Çalışma şeması.....	71
Şekil 3.2. Dilüsyon protokolü	78
Şekil 4.1. P, İ, K gruplarında yaş ortalamalarının grafiği.....	88
Şekil 4.2. P,İ ,K gruplarında cinsiyet dağılımının grafiği.....	88
Şekil 4.3. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi plak indeksi skorları karşılaştırma grafiği	93
Şekil 4.4. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi gingival indeks skorları karşılaştırma grafiği	93
Şekil 4.5. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi cep derinliği skorları karşılaştırma grafiği	93
Şekil 4.6. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi sondlama kanama skorları karşılaştırma grafiği	94
Şekil 4.7. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi dişeti büyüme indeksi skorları karşılaştırma grafiği	94
Şekil 4.8. DOS TNF- α seviyelerinin gruplara göre dağılımı.....	96
Şekil 4.9. DOS TGF- β seviyelerinin gruplara göre dağılımı	96
Şekil 4.10. DOS CX3CL1 seviyelerinin gruplara göre dağılımı	97
Şekil 4.11. Doku TNF- α seviyelerinin gruplara göre dağılımı	98
Şekil 4.12. Doku TGF- β seviyelerinin gruplara göre dağılımı	99
Şekil 4.13. Doku CX3CL1 seviyelerinin gruplara göre dağılımı	99

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Amlodipin kullanımına bağlı olarak gelişen dişeti büyümesi	13
Resim 3.1. DOS örneklerinin toplanması	76
Resim 3.2. Gingival doku örneklerinin toplanması	77
Resim 3.3. (A) Fraktalkin ELISA testinde substrat solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü (B) TGF- β ELISA testinde substrat solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü(C) TNF- α ELISA testinde substrat solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü (D) Fraktalkin ELISA testinde stop solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü (E) TGF- β ELISA testinde stop solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü (F) TNF- α ELISA testinde stop solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrat derece
μl	Mikrolitre
cm	Santimetre
dk	Dakika
g/mol	Gram/molekül
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
pg	Pikogram
pKa	İyonlaşma (kararlılık) sabiti
Rpm	Dakikadaki döngü sayısı
sn	Saniye
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama

Kısaltmalar	Açıklamalar
ABDB	Amlodipine bağlı dişeti büyümesi
ADAM10	A disintegrin and metalloproteinase 10

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ADAM17	A disintegrin and metalloproteinase 17
AIDS	Kazanılmış bağışıklık yetersizliği sendromu
Ang-2	Anjiyotensin-2
AP-1	Aktivatör protein 1
BM	Kemik iliği
C5	Kompleman faktör 5
CCL	C-C motif kemokin ligand
CCR	C-C kemokin reseptör
CD	Cep derinliği
CD4+	Yardımcı T hücresi
CD8+	Sitotoksik T hücresi
CNTF	Siliyer nörotrofik faktör
CsA	Siklosporine A
CT-1	Kardiyotrofin-1
CTGF	Bağ dokusu büyüme faktörü
CX3CL1	Fraktalkin
CX3CR	Fraktalkin reseptörü
CYP	Sitokrom enzimleri
Cyr61	Sistein bakımından zengin anjiyojenik indükleyici protein 61
DAMP	Hasarla ilişkili moleküler patern
DBİ	Dişeti büyüme indeksi
DC	Dentritik hücreler
DNA	Deoksiribonükleik asit
DOS	Dişeti oluşu sıvısı
ECM	Ekstraselüler matriks
EDA	Ekstra domain A
EDB	Ekstra domain B
EDRF	Epidermal büyüme faktör reseptörü
EH	Endotel hücreleri

Kısaltmalar**Açıklamalar**

EMT	Epitelyal mezenkimal geçiş
F	Forward
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
fMLP	N- formilmetilionilülazil fenilalanin
FOXO	Forkhead box O transcription factors
GAG	Glikozaminoglikan
G-CSF	Granülosit- koloni uyarıcı faktör
Gi	Gingival indeks
GM-CSF	Granülosit makrofaj- koloni uyarıcı faktör
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü
HLA	İnsan lenfosit antijeni
HUVEC	İnsan umbilikal ven endotel hücreleri
ICAM-1	Hücre içi adezyon molekülü-1
IFN-γ	İnterferon-γ
IKK	İkBα kinase
IL	İnterlökin
İBDB	İlaca bağlı dişeti büyümesi
JNK	c-Jun N-terminal kinase
KAS	Klinik ataşman seviyesi
KKB	Kalsiyum kanal blokeri
LIF	Lösemi inhibitör faktörü
LPS	Lipopolisakkarit
MCP	Monosit kemoatraktan protein
M-CSF	Makrofaj - koloni uyarıcı faktör
MDP	Mikrobiyal dental plak
MDR	Multi drug resistance (oklu ilaç direnci)
MGB	Mukogingival birleşim
MIP	Makrofaj enflamasyon proteini
MMP	Matriks metaloproteinazlar
mRNA	Mesajcı ribonükleik asid

Kısaltmalar**Açıklamalar**

MSB	Mine sement bileşimi
NF- κ B	Nükleer faktör kappa-B
NK	Natural killer
NOV	Nephroblastoma-overexpressed
OD	Optik dansite
OPN	Osteopontin
OSM	Oncostatin M
p38 MAPK	P38 Mitojenle aktive olan protein kinazlar
PAMP	Patojen ilişkili moleküler paternler
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PDGF- β	Trombosit kökenli büyüme faktörü- β
PGE2	Prostaglandin E2
Pİ	Plak indeksi
PMN	Polimorfonükleer nötrofil
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
R	Reverse
RA	Romatoid artrit
RANTES	Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted
RAS	Rennin anjiyotensin sistemi
RIP1	Reseptör integrin protein 1
RNA	Ribonükleik asit
ROT	Reaktif oksijen türleri
RT-PCR	Revers-Transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
SF	Sinoviyal sıvı
SKİ	Sondlamada kanama indeksi
SOS -1	Sinyal molekülü son-of-sevenless
TACE	TNF- α dönüştürücü enzim
TGF- β	Transforming büyüme faktörü β
Th	T helper (yardımcı)

Kısaltmalar**Açıklamalar**

TIMPs	Metalloproteinazın doku inhibitörleri
TLR	Toll benzeri reseptör
TNFR	Tümör nekroz faktörü reseptörü
TNF- α	Tümör nekroz faktörü- α
TRADD	Tümör nekroz faktör reseptörü tip 1 ile ilişkili ölüm alanı proteini
TRAF 1	Tümör nekroz faktörü reseptörü ile ilişkili faktör
TSLP	Timik stromal lenfopoietin
vb	Ve benzeri
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü
$\gamma\delta$ T	Gammadelta T hücresi
δ	Delta
ΔCt	Delta cycle threshold; eşik döngüsü

1. GİRİŞ

Periodontal hastalıkların etiyolojisi ve patogeneğine yönelik güncel anlayış hastalığın bakteriyel saldırı ve konak cevabı arasında çevresel ve sistemik risk faktörleriyle modifiye edilen kompleks bir etkileşim olduğunu kabul etmektedir [1].

Oral kavite içerisinde yer alan mikrobiyal dental plağa dişetin verdiği cevap konağın sistemik durumu ve kullandığı ilaçlar ile modifiye olabilir. Dişeti, konak ve çevre arasında gelişen ilişkilere hacimsel bir artış, büyüme şeklinde bir cevap gösterebilir. Dişeti büyümeleri periodontal sağlığın, fonksiyon ve estetiğın bozulmasına yol açan önemli koşullardan biri olarak değerlendirilmektedir. Dişetin klinik olarak tespit edilebilen fibrotik büyümeleri çeşitli etiyolojik faktörlerden kaynaklanır ve lokal bakteriyel plak birikimi ile şiddetlenir. Dişeti büyümesi kalıtsal (kalıtsal gingival fibromatozis), idiyopatik kökenli olabilir veya diğer sistemik hastalıklarla ilişkili olabilir. Dişeti büyümelerinin büyük kısmı, sistemik ilaçların bir yan etkisi olarak ortaya çıkmaktadır [2-5].

Nifedipin ve amlodipin gibi dihidropiridin grubu KKB, hipertansiyon ve/veya angina tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçları alan hastaların %6-30' unda dişeti büyümesi görülmüştür [6, 7].

Yapılan çalışmalarda ilaca bağlı büyümenin geliştiğı dokularda bazı sitokinlerin anormal artmış miktarları tespit edilmiştir. İlaç kullanımına bağlı gelişen dişeti büyümelerinde artmış miktarları belirlenen sitokin ve büyüme faktörleri; IL-6, IL-1 β , PDGF- β , FGF-2, TGF- β ve CTGF olarak bildirilmiştir [8-11]. Bu bilgiler büyüme patogeneğine farklı bir boyut getirmiş ve büyümeye sebep olan maddelerin bu olayı dişeti dokusundaki sitokinlerin normal balansını değiştirerek neden olabileceğı düşüncesini ortaya çıkarmıştır [6].

Fraktalkin ve CX3CR1, tanımlanmış 50' den fazla kemokin arasında benzersiz özellikler sunan, kemotaktik aktivitesinin yanı sıra, farklı bir moleküler yapıya sahip olan ve bağışıklık sistemi hücrelerinin vasküler endotelden enflamasyon bölgesine daha kolay nüfuz etmesini kolaylaştıran bir adezyon molekülü olarak işlev görebilen tek kemokindir [12, 13]. Yapılan çalışmalar CX3C kemokin alt ailesinin eşsiz üyesi olan fraktalkinin farklı kanser türlerinin

patogenezinde ve ateroskleroz, glomerülonefrit, romatoid artrit, HIV hastalığı ve sepsis gibi çeşitli klinik hastalık durumlarında rol oynadığını göstermiştir [14-17]. Yapılan literatür incelemesi sonucunda, bir çalışmada periodontitiste dokudaki lökositlerin CX3CR1' i eksprese ettiği ve ligand kemokin fraktalkinin periodontitisli hastalarda dokulardaki endotel hücrelerinde güçlü bir şekilde eksprese edildiği gösterilmiş; bir diğer çalışmada ise fraktalkin ve CX3CR1' in periapikal lezyonların gelişimiyle ilişkili olduğu, kemokin ve reseptörünün periapikal enflamasyon sırasında kemik rezorpsiyonu da dahil olmak üzere doku tahribatının ilerlemesinde rol oynayabileceği bildirilmiştir. Fraktalkinin farklı hastalıklarla ilişkisi ortaya konmuş ancak periodontal dokularla olan ilişkisi değerlendirilmemiştir. Bu çalışmada periodontal hastalıkla benzer hastalık patogenezinine sahip çeşitli sistemik hastalıklarda rol oynadığı açık bir şekilde gösterilen fraktalkinin periodontal dokulardaki varlığını değerlendirmek amaçlanmıştır. Bu amaçla plağa ve ilaç (amlodipine) kullanımına bağlı dişeti büyümesi olan bireylerde fraktalkinin yine periodontal hastalıklarda rol oynadığı kanıtlanmış TNF- α , TGF- β ile ilişkisini inceleyerek periodontal hastalık patogenezindeki rolünü ortaya koymak hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal hastalık tanımı

Periodontal dokular (periodonsiyum), dişeti, periodontal ligament, sement ve alveoler kemikten oluşmaktadır [18] .

Periodontal hastalıklar, diş kaybının önde gelen nedenleri arasında sayılan, çoğunlukla bir ya da daha fazla etiyolojik risk faktörü ile birlikte gözlenen, kompleks enflamatuvar hastalıklar olarak tanımlanmaktadır. Periodontal hastalığın kompleks yapısı, biyofilm tabaka ile birlikte buna eşlik eden konak yanıtının varlığından kaynaklanır [19].

Gingivitis, genel olarak dental biyofilm birikimi tarafından başlatılan alana özgü bir enflamatuvar durum olarak kabul edilir. Periodontal ataşman kaybı olmaması, dişetinde kızarıklık ve ödem ile karakterizedir [20]. Gingivitis; dişler üzerinde dental biyofilm birikimi ile başlayan, dişetinde kızarıklığın, spontan veya sondlama sonrasında kanamanın, dişeti oluşu sıvısında (DOS) artışın, dişetinde ödemin olduğu, radyografik kemik kaybının olmadığı periodontal bir hastalıktır. Sondlamada kanama ve DOS artışı hastalığın en erken iki bulgusudur [21].

Periodontitis, 2017 Dünya Çalıştayı' nda güncel olarak kabul edilen sınıflama sistemine göre; gingival enflamasyon, klinik ataşman kaybı, alveoler kemik kaybı ve periodontal cep oluşumu; tedavi edilmediği takdirde ise artmış mobilitate ve diş kaybı ile karakterize kronik multifaktöriyel bir enflamatuvar hastalık olarak tanımlanmıştır [22].

2.2. Periodontal ve Peri-İmplant Hastalıklar ve Durumların Sınıflandırılması

Periodontal hastalıklar, günümüze kadar çeşitli sınıflama sistemleriyle tanımlanmıştır. Bu sınıflama sistemi içerisinde 2017 Dünya Çalıştayı' nda periodontal sağlık ve hastalık tipleri detaylı olarak güncellenmiştir [23].

Periodontal Hastalıklar ve Durumlar; Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar ve Durumlar/ Periodontitis/ Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar olmak üzere 3 kategoriye ayrılmıştır.

Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar ve Durumlar

1. Periodontal Sağlık ve Gingival Sağlık

- a. Bütünlüğü bozulmamış periodonsiyumda klinik olarak gözlenebilen dişeti sağlığı
- b. Azalmış periodonsiyumda klinik olarak gözlenebilen dişeti sağlığı
 - i. Stabil durumdaki periodontitis hastaları
 - ii. Periodontitis olmayan hastalar (örn. Dişeti çekilmesi, kuren boyu uzatma yapılan dişler)

2. Gingivitis – Dental biyofilme bağı olan

- a. Sadece dental biyofilm ile ilişkili gingivitis
- b. Sistemik ya da lokal risk faktörlerinin etkilediği gingivitis
- c. İlaça bağı dişeti büyümeleri

3. Dişeti Hastalıkları - Dental biyofilme bağı olmayan

- a. Genetik/ gelişimsel bozukluklar
- b. Spesifik enfeksiyonlar
- c. Enflamatuar ve immün durumlar
- d. Reaktif süreçler
- e. Neoplazmlar
- f. Endokrin, beslenme ile ilgili ve metabolik hastalıklar
- g. Travmatik lezyonlar
- h. Dişeti pigmentasyonu

2.2.1. Periodontal sağlık ve dişeti sağlığı

Periodontal sağlık, klinik olarak gingivitis, periodontitis ve diğer periodontal durumlarla ilişkili olan hastalıkların bulunmama durumudur; herhangi bir klinik gingival enflamasyon belirtisi göstermeyecek şekilde başarıyla tedavi edilmiş gingivitis, periodontitis ve diğer periodontal durumlarla ilişkili olan hastalık hikayesi bulunan hastaları da içerebilir [24]. Klinik olarak sağlıklı periodonsiyum; <%10 sondlamada kanama, ≤ 3 mm sondlama cep derinliği, kızarıklık, klinik şişlik/ ödem veya püy olmaması durumunu içerir [25].

Periodonsiyumun normal ataşman ve kemik seviyesine veya azalmış desteğe sahip olmasına ve modifiye edici faktörleri ile tedavi sonuçlarını kontrol etme yeteneğinin bulunmasına göre 4 çeşit periodontal sağlık seviyesi bulunmaktadır [24]:

1. Ataşman ve kemik kaybı olmaksızın, klinik enflamasyon ve fizyolojik immün durumların yokluğu ile tanımlanan bozulmamış periodontal sağlık.
2. Ataşman ve kemik kaybı olmaksızın minimum düzeyde gözlenen veya hiç gözlenmeyen enflamasyon ile tanımlanan normal periodontal sağlık.
3. Azalmış periodonsiyumda peridontal hastalık stabilitesi.
4. Azalmış periodonsiyumda periodontal hastalık remisyonu

Azalmış periodonsiyumda başarılı periodontal tedavi yapılan stabil periodontitis hastalarında periodontal sağlık, lokal ve sistemik risk faktörlerinin kontrol altına alındığı, sondlamada kanamanın <%10 olduğu, sondlama cep derinliğinin ≤ 4 mm bulunduğu (derin ceplerde sondlamada kanamanın olmadığı) ve ilerleyen periodontal yıkımın izlenmemesi ile karakterizedir [26].

2.2.2. Gingivitis dental plağa bağlı olan

A. Sadece dental plağa bağlı olan gingivitis

Dental plakla ilişkili gingivitis, gingival marjinde ve apikalinde dental plak biyofilminin birikiminin bir sonucudur, spesifik olmayan enflamatuvar bir durumdur ve geri dönüşlüdür (reversibl) [27]. Genel olarak gingivitis, azalmış periodonsiyumda ya da periodontitis hikayesi olmayan kişilerde tüm dentisyonun $\geq 10\%$ unda sondlamada kanama görölmesi , sondlama cep derinliğinin ≤ 3 mm olması ile tanımlanır [20, 28]. Sondlamada kanama $10\% - 30\%$ ise lokalize gingivitis, sondlamada kanama $>30\%$ ise generalize gingivitis olarak tanımlanır [20].

B. Sistemik ya da lokal risk faktörlerine bağlı gingivitis

i. Sistemik risk faktörleri

- a. Sigara
- b. Hiperglisemi
- c. Beslenme ile ilgili faktörler
- d. Farmakolojik ajanlar (ilaç kullanımı)
- e. Cinsiyet hormonları

Puberte

Menstrual döngü

Hamilelik

Oral kontraseptifler

f. Hematolojik durumlar

ii. Lokal risk faktörleri

- a. Dental plak biyofilm retansiyonuna neden olan faktörler (örn. taşkın restorasyon kenarları)

b. Ağız kuruluğu

C. İlaça bağlı dişeti büyümesi

2.2.3. Gingival hastalıklar- Dental plağa bağlı olmayan

Dental plaktan bağımsız ve plak uzaklaştırılrsa dahi devam eden durumları içerir. Bu gözlenen gingival durumlar lokalize olabilir ya da genel sistemik durumun bir yansıması olabilirler. Dental plakla ilişkili olmayan gingival hastalıklar, genetik ve gelişimsel bozukluklar; bakteriyel, viral ve fungal orjinli spesifik enfeksiyonlar; enflamatuvar ve immün lezyonlar; epulis ve granülomlar gibi reaktif durumlar; premalign ve malign neoplazmlar, endokrin ve metabolik bozukluklar; travmatik lezyonlar ve gingival pigmentasyonlar olarak ana başlıklar altında incelenebilir [29].

2.2.4. Periodontitis

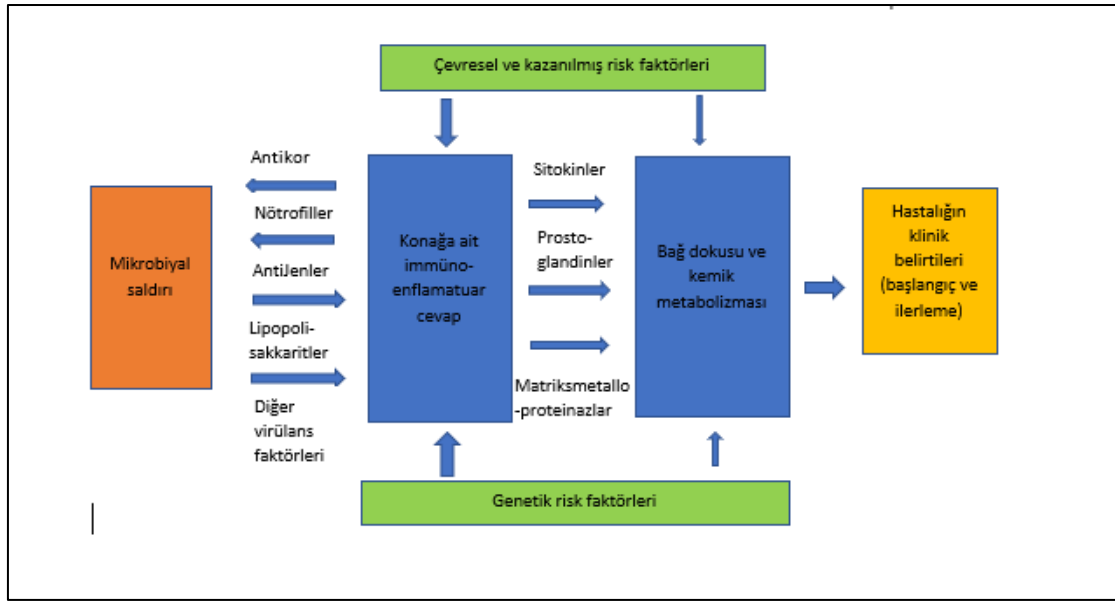
2017 Dünya alıştay'ı'nda yapılan güncel sınıflamada periodontitis teşhisi için; birbirine komşu olmayan en az 2 dişte gözlenebilen interdental klinik ataşman kaybı varlığı ya da yine en az 2 dişin oral ya da bukkal yüzeylerinde ≥ 3 mm sondlama cep derinliği ile birlikte gözlenebilen ≥ 3 mm klinik ataşman kaybı bulunması gerekmektedir. Ancak travma kaynaklı dişeti çekilmeleri, dişin servikal hattına uzanan çürükler, üçüncü büyük azı dişlerin malpozisyonuna bağlı olarak gelişen ikinci büyük azıların distalindeki klinik ataşman kaybı, marjinal periodonsiyumdan drene olan endodontik lezyonlar ve vertikal kök fraktürlerine bağlı oluşan klinik ataşman kayıpları, periodontitis teşhisi için geçerli değildir [22, 30].

Periodontitis formları da güncel olarak:

1. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
2. Sistemik Hastalıkların Belirtisi Olan Periodontitis
3. Periodontitis olarak sınıflanmaktadır

2.3. Periodontal Hastalık Patogenezi

1997 yılında Page ve Kornman tarafından geliştirilen klasik periodontal hastalık patogenezi modeli, hem plak biyofilmi hem de biyofilm ve konak yanıtı arasında bulunan karmaşık birbirine bağlı ilişkilerin çözülmesini amaçlayan çalışmaların altını çizmek için önemli bir çerçeve sunmaktadır (Şekil 1) [19].



Şekil 2.1. Periodontitis patogenezi: Subgingival plaktaki bakteriler tarafından oluşturulan mikrobiyal saldırı sonucu; artmış enflamatuar sitokin, prostoglandin ve MMP' lerle karakterize konak-immün enflamatuar cevabı meydana gelir. Bu artmış proinflamatuar mediatörler periodontal yıkımın çoğundan sorumludur. Bu değişiklikler zamanla periodontal hastalıkların klinik işaretlerine sebep olur. Bu süreç, sigara gibi çevresel faktörler ve genetik yatkınlıkla modifiye edilir.

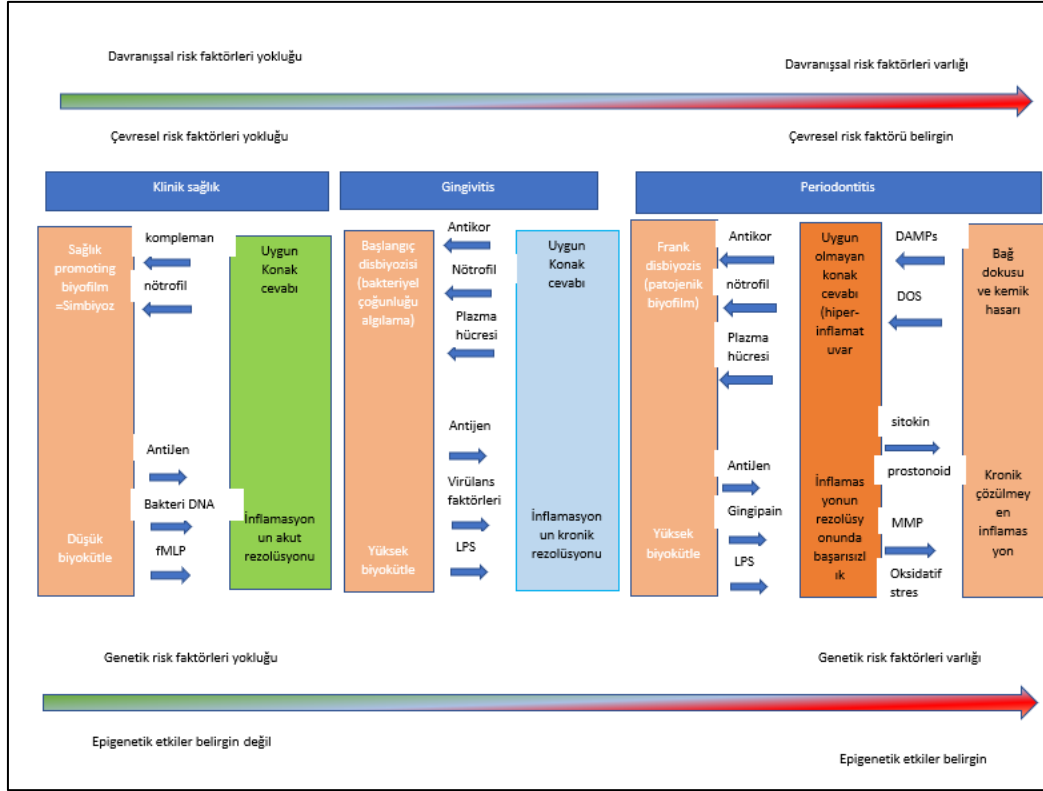
Periodontal hastalıkların periodontal sağlıktan periodontitise ilerleyiş süreci 4 ana başlıkta incelenmektedir. Page ve Schroeder periodontitis patogenezinde başlangıç lezyonu, erken lezyon, yerleşmiş lezyon ve ilerlemiş lezyon tanımlamalarını kullanmıştır [31].

Başlangıç lezyonu, yerleşmiş lökosit ve endotelial hücrelerin bakteriyel biyofilme verdiği yanıtıdır. Değişiklik ancak histolojik seviyede görülmektedir. Bakterinin metabolik ürünleri birleşim epiteli hücrelerinin sitokin üretmelerini ve lokal kan damarlarında genişlemeyi indüklemek için nöropeptid üretmek üzere nöronları uyarmalarını tetiklemektedir. Nötrofiller, kemokinlere yanıt olarak damar dışına çıkarlar ve enflamasyon yüzeyine göç

ederler. Erken lezyon, bağ dokuda artmış sayıda nötrofil, makrofaj, lenfosit, plazma hücreleri ve mast hücrelerinin ortaya çıkması şeklinde ilerlemektedir. Kompleman proteinleri aktive olur. Retepegleri oluşturmak üzere epitel prolifere olur. DOS akışı artmaktadır. Onu takip eden aşama yerleşmiş lezyondur. Bu, doğal immün yanıtın kazanılmış immün yanıtı geçiş dönemi olarak göz önüne alınmaktadır. Makrofajlar, plazma hücreleri ve T ve B lenfositleri ortamda çoğunluğu oluşturmaktadır. Kan akımı bozulmuştur, kolajen aktivitesi artmıştır. Klinik olarak bu aşama ortadan şiddetliye doğru değişen çeşitli aşamalarındaki gingivitis olarak görülmektedir. Son aşama ilerlemiş lezyon aşamasıdır. Geri dönüşsüz ataşman kaybı ve kemik kaybı histolojik ve klinik olarak görülmektedir [32, 33].

Periodontal hastalıkların etiyolojisi ve patogeneze yönelik güncel anlayış hastalığın bakteriyel saldırı ve konak cevabı arasında çevresel ve sistemik risk faktörleriyle modifiye edilen kompleks bir etkileşim olduğunu kabul etmektedir [1].

Bu klasik paradigma, mikrobiyoloji ve immünoloji alanlarındaki moleküler ilerlemeleri kapsayacak şekilde modifiye edilerek güncel periodontal patogeneze modeli oluşturulmuştur (Şekil 2) [34].



Şekil 2.2. Konak cevabının yeni başlayan bir dysbiosis (gingivitis) tetiklediği periodontitis patogenezinde güncel konak-mikrobiyal etkileşim modeli. Biyofilm uzaklaştırılmazsa, frank dysbiosis kronik çözülmeyen ve tahrip edici bir inflamasyon meydana getirir ve devam ettirir [34].

Periodontitis ve diğer periodontal hastalıkların asıl etyolojik ajanı biyofilm olarak da bilinen mikrobiyal dental plaktır (MDP)[35]. Ancak MDP' nin bulunmasının tek başına periodontal hastalığın varlığını ve şiddetini açıklamaya yeterli olmadığı gibi bu periodontopatojenlerin olduğu pek çok bireyde de periodontal yıkım görülmez. Periodontal hastalığa yatkınlık mikroorganizma, konak savunması ve çevresel faktörler arasındaki dengeye bağlı olarak gelişir [36-38].

Sağlıklı periodontal dokuda, konak savunma sistemi ile MDP içinde bulunan mikroorganizmalar arasında dinamik bir denge mevcuttur [39]. Mikroorganizmalar canlılıklarını sürdürebilmek için ortama adaptasyon sağlarken, konak ise bu adaptasyonu sınırlamaktadır. Bu denge; konağın immün cevabı, mikroorganizmaların hastalık oluşturabilme kapasiteleri (virülansı), çevresel ve kazanılmış risk faktörleri ve genetik arasındaki etkileşime göre değişebilir. Dengenin bozulması sonucu periodontal hastalık ortaya çıkmaktadır [40].

Peridontal dokularda ilk enflamasyon patolojiden ziyade mikrobiyal mücadeleye karşı fizyolojik savunma ile “birleşim epiteli” tarafından gerçekleştirilir [41]. Birleşim epitelinin serbest yüzeyi çok geçirgendir. Böylece hücrelerin ve sıvıların dişeti oluşuna geçişine izin vererek mikroorganizmalara ve ürünlerine karşı savunma mekanizması sağlarken tersi yönde mikroorganizmaların ve ürünlerinin doku içerisine geçişine de olanak sağlayabilir [42]. Bu fiziksel bariyere ek olarak tükürüğün devamlı yıkama, temizleme ve tamponlama etkisi ve DOS’ un dişeti oluşu içerisine spesifik antikorlar ve serum içeriğini temin edebilme özelliği de savunmada önemli sistemlerdir [1]. Epitelin ve ekstraselüler matriks içeriğinin hızlı döngüsü (turnoverı) ile bir yandan da mikroorganizmalardan zarar gören hücre ve dokuların yenilenmesi sağlanmaktadır [43]. Mikroorganizmalar tarafından salınan endotoksinler, proteazlar ve kemotaktik peptidler gibi ürünler “direkt” doku hasarına neden olmakla birlikte birleşim epitelinden geçerek konak cevabını uyarıp “indirekt” doku yıkımına da neden olur [44]. Konak cevabı mikroorganizmalara karşı gelişen bir tepkidir ve akut iltihabi hücreler (nötrofil) ile adaptif hücrelerin (monosit/makrofaj ve lenfosit) iyi organize olmuş aktiviteleri olarak nitelenebilir [43]. Nötrofiller, akut enflamatuvar cevabın ve mikrobiyal enfeksiyonun ana unsurlarından biridir. Bakterilerle karşılaştıklarında bu mikroorganizmaları bir fagozom içerisine alırlar, hücre içi granüllerle eriterek bir fagolizozom oluştururlar. Fagolizozom içerisinde bakteriler; enzimler, antimikrobiyal peptitler ve reaktif oksijen türleri (ROT) tarafından yok edilirler [45].

Mikroorganizmaların ürettiği dokular için toksik olan bütirik ve propionik asit gibi yağ asitleri, N-formil-metiyonil-lösil-fenilalanin tip peptidler ve lipopolisakkarit gibi ürünler birleşim epitelindeki hücreleri uyarak IL-8, TNF- α , IL-1 α , prostaglandin E2 (PGE2) ve matriks metalloproteinaz (MMP)’ ler gibi enflamatuvar mediatörlerin sentezlenmesine sebep olurlar [46-48]. Böylece makrofaj kaynaklı IL-8, kompleman sisteminin ürünü olan C5a ve bakteriyel kaynaklı peptidlere bağlı olarak nötrofil migrasyonu gelişir [49]. Nötrofiller dokular içinde birikmekte ve lizozomal granül içeriklerini (kolajenaz, elastaz, katepsin G, ROT ve plazmin gibi) hücre dışı ortama salarak lokal doku yıkımlarına neden olur [50]. Diğer yandan nötrofiller, MMP-8 (nötrofil kolejenaz) ve MMP-9 (jelatinaz B)’ un majör kaynağıdır [51]. Bu enzimler, nötrofillerin sıkı kolajen lifler arasından sulkusa göç ettiği sırada, enflame dişeti dokularında büyük miktarlarda üretilmektedir [52]. Kan damarları çevresindeki kolajen ve diğer ekstraselüler matriks içeriği kaybolur. Supragingival plak ve

enfeksiyon dişeti oluğundan apikal yönde ilerledikçe birleşim epitelinin apikalindeki hücreler de çoğalarak kök yüzeyi boyunca apikal yönde ilerler ve sulkus epiteli ülsere bir cep epiteli haline gelir [19].

Nötrofiller aynı zamanda savunma görevinde olsalar da immnopatolojinin önemli hcrelerindendir [53]. Nötrofillerin bakteriler ile karşılaşması fibroblast, endotel hücreleri ve keratinosit gibi çok önemli hücelere zarar verir [54]. Nötrofiller doku yıkım proteazlarını da içeren lizozomal enzimleri sentezlerler ve ortama salarlar [55]. Doku yıkıcı enzimlerin, kemik rezorbe eden lipidlerin ve diğer iltihabi mediatörlerin varlığı iltihabi cevabın oluşumuna ve ataşman kaybına neden olur [56, 57].

Sağlıklı dişetinde makrofajlar az sayıda bulunurlar ve gingivitis ve periodontitis gibi hastalık durumlarında, makrofaj yoğunluğu diğer hücre tiplerine oranla daha az artmaktadır. Makrofajlar, bakteri ve ürünleri ile karşılaşmalarının ardından çok sayıda sitokin (IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, TNF- α , TGF- β , IFN- γ), kemokin, MMP' ler ve PGE2 salgılar [58]. IL-1 β , TNF- α ve PGE2 periodontal hastalıklı dokularda yüksek oranlarda bulunur ve hastalığın patogenezi etkiler. Bu mediatörlerin etkisiyle daha fazla lenfosit ve monosit bölgede toplanmaktadır [59]. Makrofajlar bir taraftan ürettikleri bu mediatörler ile doku yıkımına neden olurken bir yandan da T hücrelerinin CD4⁺ klonlarını aktive ederler. Aktive T hücreleri (CD4⁺ ve CD8⁺ klonları) tarafından da bir dizi kemotaktik madde (monosit kemoatraktan protein-MCP, makrofaj enflamasyon proteini-MIP) ve çok sayıda sitokin (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL13, TNF- α , TGF- β , IFN- γ) ortama salınır [60]. B hücreleri de farklılaşarak antikor üreten plazma hücre klonlarını oluşurmaktadır. Plazma hücreleri dokularda çoğalarak IgG ve sitokinleri (IL-6, TNF- α) retirler [61].

Makrofajlar, nötrofiller, fibroblastlar, endotelial hücreler ve osteoblastlar gibi çeşitli hücreler tarafından üretilen konak kaynaklı başlıca faktörler; sitokinler (rneğin; IL-1, IL-6, TNF, TGF- β , IFN, PDGF), prostoglandinler ve lökotrienler enflamatuar ve immün reaksiyonlar sırasında alveolar kemik kaybına neden olurlar [62].

2.4. İlaça Bağlı Dişeti Büyümesi

Dişeti büyümesi terimi, dişetinde meydana gelen hacimsel bir artışın gözlemlendiği herhangi bir klinik durumu içerir. Önceden kullanılan 'gingival hiperplazi' ya da 'gingival hipertrofi' terimleri, farmakolojik olarak modifiye edilen dişetin histolojisini doğru olarak yansıtmadığı için, bu terimlerin yerini günümüzde 'dişeti büyümesi' terimi almıştır [63].



Resim 2.1. Amlodipin kullanımına bağlı olarak gelişen dişeti büyümesi

Dişeti büyümeleri sebep olan *etiyolojik faktörlere ve patolojik değişikliklere göre* aşağıdaki gibi gruplandırılmıştır [64]:

- I. Enflamatuvar dişeti büyümeleri
 - A. Akut
 - B. Kronik
- II. İlaça bağlı dişeti büyümeleri
- III. Sistemik hastalıklarla ilişkili dişeti büyümeleri
 - A. Durumsal Büyümeler
 1. Hamilelik
 2. Puberte
 3. Vitamin C eksikliği

4. Plazma hücreli gingivitis

5. Spesifik olmayan durumsal büyümeler (Piyojenik granüloma)

B. Dişeti büyümesine neden olan sistemik hastalıklar

1. Lösemi

2. Granülamatöz hastalıklar (Wegener granülomatosis, Sarcoidosis)

IV. Neoplastik dişeti büyümeleri

A. Benign tümörler

B. Malign tümörler

V. Yabancı büyümeler

Dişeti büyümeleri *lokalizasyon ve dağılımlarına göre* de aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır [64]:

- 1- Lokalize dişeti büyümeleri: Tek bir diş veya bir grup diş etrafındaki dişeti ile sınırlanmış büyümeler,
- 2- Generalize dişeti büyümeleri: Ağız içerisindeki tüm dişetini kapsayan büyümeler,
- 3- Marjinal dişeti büyümeleri: Dişeti kenarı ile sınırlı büyümeler,
- 4- Papiller dişeti büyümeleri: İnterdental papille sınırlı dişeti büyümeleri,
- 5- Yaygın dişeti büyümeleri: Marjinal dişeti, yapışık dişeti ve papillaları içine alan dişeti büyümeleridir.
- 6- İzole dişeti büyümeleri: İzole sapsız veya tümör benzeri saplı dişeti büyümeleri.

Son olarak yapılan 2017 Dünya Çalıştayında; periodontal ve peri-implant hastalıklar ve durumların yeni sınıflandırma sistemleri yapılmış, dental plağa bağlı gingival hastalıklara ilişkin revizyon yapılarak dişeti büyümelerinin şiddeti ve yaygınlığı, tanımı ve taksonomisi de revize edilerek, dişeti büyümeleri; dental plağa bağlı gingivitis başlığı altında sınıflandırılmıştır [65].

Oral kavite içerisinde yer alan mikrobiyal dental plağa dişetin verdiği cevap konağın sistemik durumu ve kullandığı ilaçlar ile modifiye olabilir. Dişeti, konak ve çevre arasında gelişen ilişkilere hacimsel bir artış, büyüme şeklinde bir cevap gösterebilir. Dişeti büyümeleri periodontal sağlığın, fonksiyon ve estetiğin bozulmasına yol açan önemli

koşullardan biri olarak değerlendirilmektedir. Dişetin klinik olarak tespit edilebilen fibrotik büyümeleri çeşitli etiyolojik faktörlerden kaynaklanır ve lokal bakteriyel plak birikimi ile şiddetlenir. Dişeti büyümesi kalıtsal (kalıtsal gingival fibromatozis), idiyopatik kökenli olabilir veya diğer sistemik hastalıklarla ilişkili olabilir. Dişeti büyümelerinin büyük kısmı, sistemik ilaçların bir yan etkisi olarak ortaya çıkmaktadır [2-5].

İlaça bağlı dişeti büyümesi (İBDB), kalsiyum kanal blokerlerinin (KKB), immünsupresörlerin ve antikonvülsan ilaçların bir yan etkisi olarak ortaya çıkmaktadır. KKB arasında yer alan dihidropiridinler (örneğin, nifedipin, felodipin, amlodipin, nitrendipin, nikardipin ve manidipin) gingival büyüme ile daha sık ilişkilidir [66].

Nifedipin ve amlodipin gibi dihidropiridin grubu KKB, hipertansiyon ve/veya angina tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçları alan hastaların % 6-30' unda dişeti büyümesi görülmüştür [6, 7].

Amlodipin, hipertansiyon ve anjina pectoris tedavisinde sıklıkla kullanılan üçüncü jenerasyon KKB' dir [67].

2.4.1. İlaça bağlı dişeti büyümelerinin prevalansı

İlk kez 1939 yılında Kimball tarafından antiepileptik bir ilaç olan fenitoinin kronik kullanımı sonucunda ilaç kullanımına bağlı olarak dişeti büyümesi geliştiği rapor edilmiştir [68]. Bu veriyi 1983 yılında Rateitschak ve diğerlerinin bildirdikleri siklosporine (CsA) bağlı dişeti büyümesi takip etmiştir [69]. KKB ile ilişkili dişeti büyümesi ise ilk olarak 1984 yılında nifedipin ile tedavi edilen hastalarda Lederman tarafından tanımlanmıştır [70]. Amlodipine bağlı dişeti büyümesini (ABDB) ve amlodipinin gingival sekestrasyonunu ilk olarak Ellis ve diğerleri rapor etmişlerdir [7]. Günümüzde, 20' den fazla reçeteli ilaç, dişeti büyümesi ile ilişkili bulunmaktadır [71]. İBDB' nin prevalansı diğer dişeti büyümelerine kıyasla %3-20' dir [72]. Nifedipin kullanan hastalarda dişeti büyümesinin prevalansının %20-83 arasında değiştiği [7], amlodipin kullanan hastalarda ise yaklaşık olarak %3,3 olduğu bildirilmiştir [73].

Mevcut literatürün çoğunluğu, ABDB' nin, 2 ila 10 ay içinde 10 mg/ gün dozunda ve nadiren de olsa ilk 5 ay içinde 5 mg/ gün daha düşük bir dozda ortaya çıktığını göstermektedir [74]. Lafzi ve diğerleri tedavi başlangıcından sonraki iki ay içinde günde 10 mg amlodipin alan hastalarda dişeti büyümesi geliştiğini bildirmiştir [75].

Çalışmalarda dişsiz bölgelerde büyüme gözlenmemiştir. Ancak dental implantlar etrafında nifedipin ve fenitoinle ilişkili mukozal büyüme (dişeti büyümesi) rapor edilmiştir [2, 76, 77]. İmplantlar çevresinde mukozal büyüme riski daha az bildirilmiştir. Peri-implantitis ve amlodipin kullanımına bağlı mukozal büyüme ile başvuran 10 mg amlodipinin 6 ay kullanımı sonrası büyüme gözlenen implant destekli restorasyonu olan vaka raporu bildirilmiştir [78].

2.4.2. İlaça bağlı dişeti büyümelerinin risk faktörleri

İlaça bağlı dişeti büyümelerinin patogenezi henüz tam olarak açıklanamamıştır. Dişetini oluşturan bileşenlerle ilaçlar arasındaki ilişkiyi etkileyen faktörler; periodontal değişkenler , yaş, cinsiyet, ilaç değişkenleri, kombine kullanılan ilaçlar ve genetik olarak sıralanabilir [3].

Periodontal Değişkenler

Oral bakteriyel biyofilm tüm enflamatuvar periodontal hastalık formları için ortak bir risk faktörüdür ve varlığı KKB' nin neden olduğu dişeti büyümesini artırır. Dişeti büyümesinin şiddeti, zayıf oral hijyen ile ilişkilidir. Mikrobiyal plağın ilaca bağlı dişeti büyümesinin etiyolojisindeki kofaktör olarak rolü, periodontal hastalıkların 1999 yılında yapılan sınıflandırma sisteminde kabul edilmiştir [79].

Yaş ve cinsiyet

Çocukların ve ergenlik dönemindeki gençlerin, İBDB' ne yetişkinlerden daha duyarlı olduğu klinik çalışmalarla desteklenmiştir. Fenitoinle bağlı dişeti büyümeleriyle ilgili yapılan çalışmalar, ilaca bağlı oluşan yan etkinin daha çok gençleri etkilediğini göstermiştir. (Seymour ve diğerleri 2000). Siklosporin A' ya bağlı dişeti büyümeleri için yaşın bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Somacarrera ve diğerleri 1994, Karpinia ve diğerleri 1996) [80].

Siklosporin A ve KKB kombine kullanan hastalarda yaş, risk faktörü olarak tanımlanmıştır (Thomason ve diğerleri 1997) [81]. Benzer sonuçları Nishikawa ve diğerleri (1996) CsA, fenitoin ve nifedipin için elde etmişler ve İBDB miktarının yaş ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir [72].

Yaş, tek başına KKB' leri için bir risk faktörü olarak tanımlanmamıştır, çünkü bu ilaçlar genellikle orta yaşlı ve daha yaşlı hastalara reçete edilmektedir, bu da onların sınıflandırılmalarını zorlaştırmaktadır [7]. Bununla birlikte, hem insan hem de hayvan çalışmaları, cinsiyete bağlı bir faktörün ilaca bağlı dişeti büyümesinde aşırı rol oynadığını düşündürmektedir; erkeklerde kadınlardan çok daha fazla görülmektedir. Ellis ve diğerleri nifedipin kullanan hastalarda erkeklerde kadınlara oranla dişeti büyüme prevalansının üç kat daha fazla olduğunu bildirmiştir [7]. Nifedipin, kültürlenmiş dişeti fibroblastlarına eklendiğinde testosteronun 5a-dihidrotestosterona dönüşümünü artırarak androjen metabolizmasını etkilediği gösterilmiştir [82, 83]. Aktif androjen metaboliti, fibroblastların alt popülasyonlarını hedef alır ve kolajen sentezini indükler veya bozulmasını azaltır. Ishida ve diğerleri , büyümenin gerçekleştiği bir ilaç serum eşığının var olduğunu ve bu seviyenin erkeklerde daha düşük olduğunu öne sürmüştür [83].

İlaç Değişkenleri

Dişeti büyümesinin şiddeti ve yaygınlığı ile ilaç değişkenleri (ilacın kullanım süresi, dozu, serum ve tükürük konsantrasyonları) arasındaki ilişkiyi saptamaya yönelik çalışmaların sonuçları farklılıklar göstermektedir. Sonuçlardaki farklılıkların çoğu, dişeti büyümesini değerlendirme yöntemi, kan örneğinin alınma zamanı, çalışmaya katılan hasta sayısındaki değişiklikler ve ilacın farmakokinetik profilini etkileyebilecek diğer faktörlere bağlanabilir [3, 84]. Dişeti büyümesi yapan ilaçların tükürük ve DOS' taki konsantrasyonlarının değerlendirildiği çalışmalarda, DOS' ta fenitoin, nifedipin ve amlodipin varlığı tespit edilmiştir, ancak DOS' taki fenitoin konsantrasyonu ile dişeti büyümesinin şiddeti arasında bir ilişki bulunamamıştır. Nifedipin de DOS' da yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiş, ancak dişeti büyümesi ile aynı şekilde bir korelasyon saptanamamıştır. Buna karşın ilacın plazma konsantrasyonu ile dişeti büyümesinin şiddeti arasında bir ilişki olduğu gözlenmiştir [3, 73]. Yapılan bir çalışmada, DOS' taki nifedipin konsantrasyonu ile dişeti büyümesi

şiddeti arasında belirgin bir ilişki olmadığı ve hem plazma hem de DOS' taki nifedipin konsantrasyonunun dişeti büyümesi için risk faktörü olmadığı ortaya konmuştur [85]. Nifedipin dozu ile dişeti büyümesi arasında belirli bir korelasyon yoktur [86]. Jorgensen' nin amlodipin ile ilgili çalışması 5 mg veya daha yüksek bir günlük dozun bazı hastalarda dişeti büyümesi için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir [87].

Dişetindeki değişikliklerin başlaması için ilacın dokularda belli bir eşik değere ulaşması gerektiği ve bu eşik değerın bireyden bireye farklılık gösterdiği düşünülmektedir. Bu sebeple dişeti büyümelerinde, hastanın vücut ağırlığıyla ilaç dozunu ilişkilendirmek daha uygundur [3].

Kombine kullanılan ilaçlar:

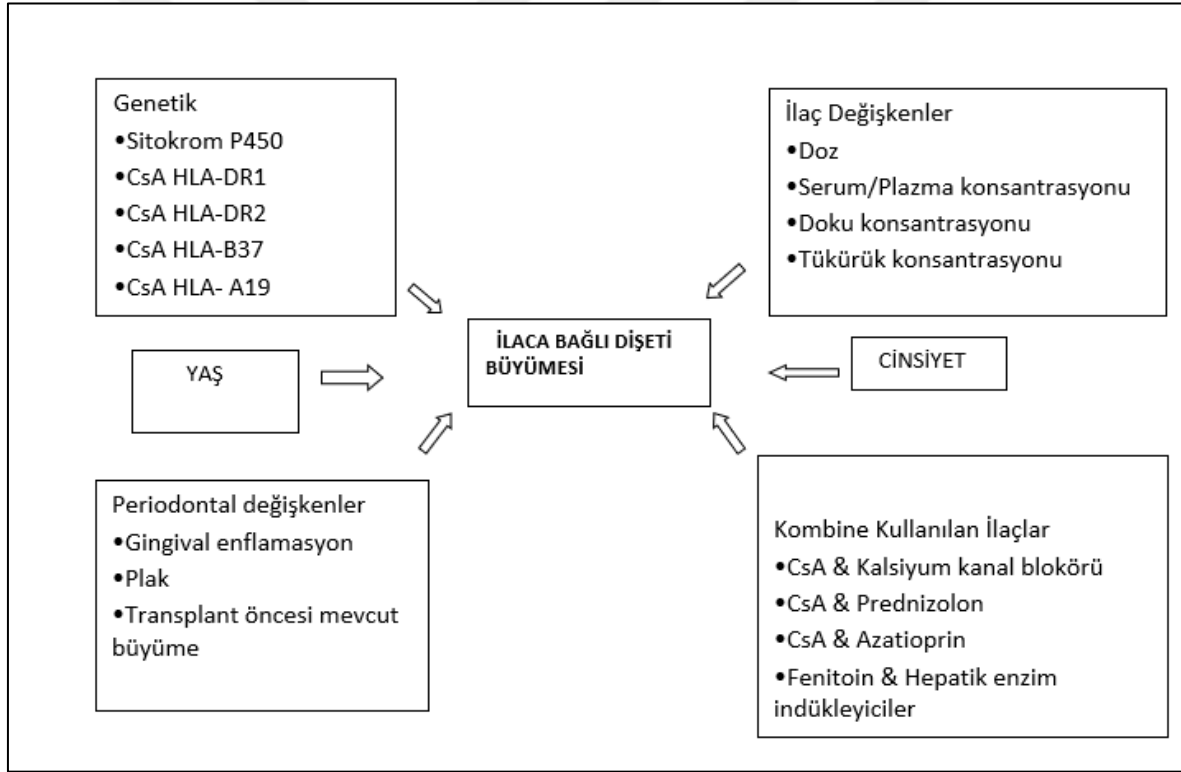
Organ transplantasyonu yapılan hastaların birçoğu, siklosporinle beraber, siklosporine bağlı olarak oluşan nefrotoksisteyi ve hipertansiyonu tedavi etmek için nifedipin kullanmaktadırlar. İki ilaç kombine olarak kullanıldığında dişeti büyüme insidansında artış gözlenmiştir [3, 88]. Kalsiyum kanal blokörü ve CsA' nın birlikte kullanımının, bu ajanların tek başına kullanımına nispeten, daha fazla dişeti büyümesine neden olabileceği gösterilmiştir [81, 84, 89]. 135 renal ransplantasyon hastasını içeren bir kohort çalışmasında, siklosporin ve nifedipinin kombine kullanımının (%53), siklosporin ve amlodipin ile tedavi edilen hastalara (%72) göre daha az dişeti büyümesine neden olduğu gösterilmiştir [90].

Genetik Faktörler

İlaç kullanımı sonrasında hastalarda görülen farklı dişeti cevabı, fibroblastların heterojenitesiyle açıklanmaya çalışılmıştır [88]. Gingival doku fibroblastlarının değişik subpopulasyonlarının olduğu ve de bu subpopulasyonlardan bir kısmının yüksek kapasitede protein ve kolajen sentezleyebildiği öne sürülmüştür [91]. İki ayrı dişeti fibroblast subpopulasyonu varlığından bahsedilmektedir. Bunlar dişetin ilaca gösterdiği cevaba göre, yüksek aktiviteli ve düşük aktiviteli fibroblastlar olarak isimlendirilmektedir [91]. Bu fibroblastların dokudaki oranları genetik olarak belirlenmektedir [84]. Farklı fibroblast fenotiplerinin KKB' ne genetik yatkınlığı, insan lenfosit antijeniyle ilişkili olabilir [92].

Bununla birlikte, oral hijyen seviyelerinin yanı sıra KKB' lere ve risk altındaki hastalara karşı duyarlılığı belirlemek için kullanılan herhangi bir klinik belirteç yoktur.

İlaçları metabolize eden enzimler ile dişeti büyümesi ilişkisi üzerinde de durulmuştur. Fenitoin, siklosporin ve nifedipinin her üçü de karaciğerdeki sitokrom P450 enzimi tarafından metabolize edildikleri için bireylerdeki genetik farklılıklar, bu ilaçların metabolizmalarını etkileyebilir (Thomason 1995, Seymour ve diğerleri 2000). CYP gen ailesi, bireyler arası enzim varyasyonlarına neden olacak şekilde polimorfizmler göstermektedir. Bu enzim varyasyonlarının da, ilaçların serum ve doku konsantrasyonlarını etkileyerek, gingival cevabı değiştirebileceği bildirilmiştir [3, 84] .



Şekil 2.3. İlaça bağlı dişeti büyümelerinde risk faktörleri (Seymour ve diğerleri 2000)

2.4.3. Dişeti bağ dokusu homeostazisinde meydana gelen ilaca bağlı değişimler

İBDB' nin klinik ve histolojik özellikleri incelendiğinde bağlantı epitelinde hiperplazi, keratinize epitelde hipertrofi ve bağ dokusunun ekstraselüler matriksinde ve özellikle kolajen komponentinde aşırı birikim gözlenmektedir [93].

İBDB' nin tümünün ortak histopatolojik bulgusu bağ dokusu matriksindeki artıştır, bu nedenle bağ dokusu homeostazisi üzerinde ilaca bağlı değişiklikler, kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Bu çalışmalar, kolajen üretimi ve kolajen metabolizmasının araştırılması olmak üzere iki ayrı grupta toplanabilir [5].

Dişeti fibroblastları tarafından kolajen üretimi, kolajeni düzenleyen mekanizmalarca ayarlanır. Hücre içi parçalanma mekanizması, metalloproteinaz sentezi ve inhibitörleri ile ayrıca metalloproteinazın doku inhibitörleri (TIMPs) tarafından düzenlenmektedir [5]. Memelilerde en çok bulunan protein olan kolajenin metabolizması, kolajen sentezi ve yıkımı arasındaki denge ile sağlanmaktadır. Kolajen fibrillerin (özellikle tip I kolajen) sentez ve degradasyonunun homeostazisinin kaybolması sonucunda kolajen fibrillerin birikimi ve bunun sonucunda fibrozis gerçekleşir. İBDB , tip I kolajen sentezinin artmasından daha çok , fibroblastların kolajeni fagosite etmelerinin azalması sonucu dişeti bağ dokusundaki tip I kolajen degradasyonunun azalmasıyla ilişkilidir [94] .

Fibroblastların kolajeni fagositozunda, kolajen ve fibroblastın birbirine adezyonunda $\alpha 2$ integrin kritik bir rol oynar. İntegrinler ekstraselüler matriks molekülleri için heterodimerik transmembran reseptörleridir. Hücreler ve ekstraselüler matriks arasındaki moleküler diyalogu sağlayan temel mediatörlerdir. Hayvan çalışmalarında, dişeti büyümesi yapan ilaçların $\alpha 2$ integrinin ekspresyonunu baskıladığı veya gingival fibroblastlara $\alpha 2$ integrinin bağlanma aktivitesini azaltması sonucu kolajen fagositozunda inhibisyon meydana getirdiği gözlenmiştir [94].

Dişeti büyümesi yapan ilaçların hepsinin farklı farmakolojik özellikleri bulunmakla birlikte hepsi de hücre içine Ca^{+2}/Na^{+2} akışına etki eder. Hücre içine kalsiyum akışının bozulması sonucu fibroblastların kolajen fagositoz mekanizmaları bozulmaktadır [5, 94].

Gingival fibroblastlarla yapılan hücre kültürü çalışmaları sonucunda fenitoin, nifedipin ve CsA' nın kolajen ve kolajen olmayan ekstraselüler matriks metabolizmasına direkt olarak etkilerinin incelendiği çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. In vitro yapılan bu çalışmalarda CsA, fibroblastların glikozaminoglikan sekresyonlarını arttırırken, fenitoin ve nifedipin fibroblastların heparin seviyesini arttırmıştır. Bu ilaçların gingival fibroblastların

ekstraselüler matriks üretimini ve/veya hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini gösteren çeşitli in vitro çalışmalar da mevcuttur. Ayrıca ilaca bağlı dişeti büyümelerinin in vivo ve in vitro olarak incelendiği çalışmaların sonuçlarındaki tutarsızlık, bu ilaçların ekstraselüler matriks mekanizmasına veya gingival fibroblast proliferasyonuna direkt etkisinin, dişeti büyümesinden sorumlu primer mekanizma olamayacağını düşündürmektedir[6].

Hücre kültürü çalışmaları sonucunda fenitoine bağlı dişeti büyümelerinden üretilen fibroblastların oluşturdukları ekstraselüler matriksin fibroblast yayılımını kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Fibroblast yayılımının dişeti büyümesi için ön koşul olduğu belirtilmiştir. Hücre kültürü çalışmalarından, hem fenitoin hem de nifedipinin kolajen gen ekspresyonu üzerine etkilerinin araştırılması için de yararlanılmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre hem fenitoin hem de nifedipin, tip I ve tip IV kolajen genlerinin ekspresyonunu etkileyebilmektedir [5, 95, 96].

2.4.4. İlaça bağlı dişeti büyümesinin klinik karakteristik özellikleri

İBDB, KKB' nin başlangıç dozunu takiben 1–3 ay gibi erken bir sürede klinik olarak saptanabilir. Her ne kadar büyüme, dişsiz bölgeleri etkilemiyorsa da nifedipine bağlı gingival büyüme, dental implantlar etrafında bildirilmiştir [76].

Büyüme lokalize veya genel olabilir, tüm ağız etkileyebilir ve interproksimal dişeti papillalarının hafif artışından hem marjinal hem de papiller dokuların şiddetli büyümesine kadar değişebilir. İlk evrelerinde, dişeti büyümesi, interdental papillaların sert bir nodüler genişlemesi olarak gözlenebilir ve ağızda prevalansı değişir. Posterior dişlerden ziyade anterior bölgeler daha fazla etkilenir ve palatal/lingual yüzeylere göre fasiyal/bukkaldaki daha belirgindir [97].

İBDB' nin genel karakteristik özellikleri aşağıdaki gibi sıralanır[98]:

1. Hastalar arasında ve bir hasta içindeki paternde varyasyonlar gözlenebilir.
2. Dişeti büyümesi, sıklıkla anterior bölgede oluşma eğilimindedir.
3. Çocuklarda görülme prevalansı daha yüksektir.

4. İlaç kullanımını takiben 3 ay içerisinde büyüme başlangıcı gözlenir.
5. Dişeti boyutunda dişeti konturunda değişimlere neden olacak şekilde modifikasyonlar gözlenir.
6. Büyümeler ilk olarak interdental papilde gözlenir.
7. Dişeti renginde değişim gözlenir.
8. Gingival eksudada artış gözlenir.
9. Uyarılmaya bağlı kanama artar.
10. Dişeti büyümesi, kemik kaybı olan veya olmayan dişetinde de izlenebilir, ancak ataşman kaybı ile ilişkili değildir.
11. Mevcut plakla bağlantılı olarak, dişetinde enflamatuvar cevapta belirgin artış görülür.
12. Dental plaktaki azalmalar, lezyonun şiddetini değiştirebilir.
13. Hastalar fenitoin, siklosporin A veya belirli kalsiyum kanal blokörleri kullanıyor olmalıdır; insanlarda büyümeyi indükleyen plazma konsantrasyonları tam olarak belirlenememiştir.

Dişeti büyümeleri, lokal faktörlerin neden olduğu enflamasyonun derecesine bağlı olarak ödemli veya fibrotik olabilir. Fibrotik büyüme normalde yapışık dişetiyle sınırlıdır. Ancak çiğnemeyi, konuşmayı ve estetiği etkileyecek şekilde kronik doğru uzanabilir. Bunun sonucunda beslenme ve ağız hijyeni bozulur, oral enfeksiyona yatkınlık, çürük ve periodontal hastalık gelişebilir [99].

2.4.5. İlaça bağlı dişeti büyümelerinin histolojik özellikleri

Tüm İBDB formlarının histopatolojik özellikleri benzerdir, gingival doku hacmindeki artış esas olarak epitel hücre proliferasyonundan daha çok bağ dokusu cevabı nedeniyle. Bağ dokusunun ekstraselüler matriksinde ve özellikle kolajen komponentinde aşırı birikim gözlenmektedir [97].

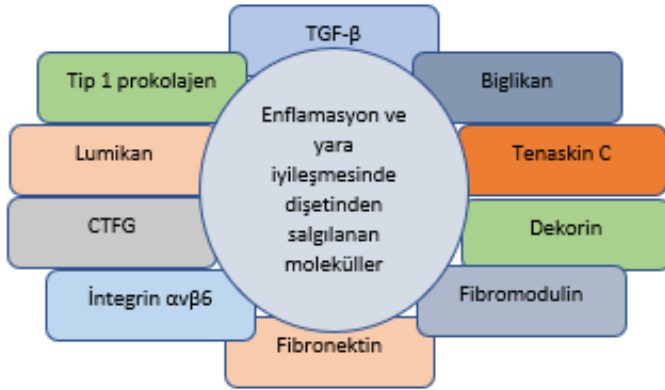
Genel olarak, epitelde akantoz ve parakeratinize skuamöz epitel, bağ dokusunun derinliklerine doğru uzayan retepegler, lamina propriyada değişken fibroblastlarla birlikte kolajen fibrozu, vaskülerite artışı, plazma hücreleri ve lenfositler içeren enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ve glikozaminoglikanların (GAG) belirgin değişiklikleri ile amorf bir dolgu maddesi izlenmektedir [100].

Bazı araştırmacılara göre, İBDB' nin interdental papillada başlaması bu bölgeye özgü bazı moleküler histolojik özelliklerden kaynaklanıyor olabilmektedir. Çalışmalardan yola çıkarak papiller büyümeye odaklanan bir dizi ölçüm indeksi geliştirilmiştir [101, 102].

İnterdental papilla, dişetin diğer kısımlarına kıyasla sınırlı bir rejenerasyon potansiyeline sahiptir. Dişeti büyümesine karşı daha hassastır, bu da diş etinin diğer bölümlerinden farklı hücresel ve moleküler özelliklere sahip olduğunu düşündürür [102].

Csiszar ve diğerleri, yedi sağlıklı denekten alınan interdental papilla ve marjinal dişetinde bir dizi anahtar molekülün ekspresyonunu immünohistokimyasal boyama ile karşılaştırarak incelemişlerdir. İnterdental papillanın oral epitelinde integrin $\alpha\beta6$ ve sitokeratin 19 için immünoreaktivite, marjinal gingivadan anlamlı derecede yüksektir. Tip I prokolajen, ekstra domain A (EDA) ve ekstra domain B (EDB) fibronektin izoformları, tenascin-C, TGF- β , CTGF ve sinyal molekülü son-of-sevenless (SOS) -1' de interdental papillada artmıştır. Küçük lösin açısından zengin proteoglikanlar decorin, biglikan, fibromodulin ve lumikanın interdental papilladaki ekspresyonun, marjinal diş etinden kısmen farklı olduğu bulgulanmıştır [102].

İnterdental papillanın moleküler bileşimi, marjinal diş etinden farklıdır. Normalde yara iyileşmesinde indüklenen moleküllerin artan ekspresyonu (integrin $\alpha\beta6$, fibronektin-EDB ve -EDA, tenascin-C, Tip I prokolajen, TGF- β , CTGF ve SOS-1) interdental papilladaki hücrelerin bir aktif durum ve/veya doğası gereği yara iyileşmesini andıran spesifik bir fenotip gösterir [102] .



Şekil 2.4. Yara iyileşmesi ve enflamasyon sırasında dişetinden salınan çeşitli moleküller

2.4.6. İlaça bağlı dişeti büyümesinin patogenezi

İlaça bağlı dişeti büyümesinin multifaktöriyel özellikte olması sebebiyle patolojisinin açıklanması güçtür. Bu tip dişeti büyümelerinin klinik ve histolojik görüntüsü; enflamasyonun şiddeti, ilacın kullanım süresi, dozu, tipi, hastanın oral hijyen düzeyi, çevresel etkiler ve genetik faktörlerce şekillenen bireysel yatkınlığa bağlıdır.

Üç önemli faktörün dişetinde meydana gelen değişikliklerden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bunlar, ilaç değişkenleri, gingival dokularda plak tarafından indüklenen enflamatuvar değişiklikler ve genetik faktörlerdir. Genetik faktörler ilaç metabolizmasını etkileyebilir. Gingival fibroblastlardaki heterojenite sonucu ilaca verilen yanıt değişmektedir. Dişeti büyümesi, bu yan etkiye yol açtığı bildirilen ilaçları alan hastaların sadece bir kısmında meydana gelmektedir [91].

Gingival dokulardaki enflamatuvar değişiklikler, ilaç ve fibroblast arasındaki etkileşimler ve bu hücrelerin daha sonraki aktivitelerinin düzenlenmesinde etkin rol oynar. Ayrıca bu ilaçlar direkt olarak enflamatuvar cevabı etkileyerek gerek hücresel yanıtı ve gerekse de sitokin, prostaglandin ve büyüme faktörlerinin salınımına etki ederler [5].

Başta ilaca bağlı değişkenler olmak üzere, genetik faktörler ve plağa bağlı enflamatuvar değişiklikler kolajen matriks mekanizmasının kontrol edilmesinde etkilidirler. Bu üç

faktörün tümü, matriks metalloproteinazların ve bunların doku inhibitörlerinin sentezlenmesi ile salgılanmasına etki ederek kolajen matriksin kontrolünü sağlarlar [5].

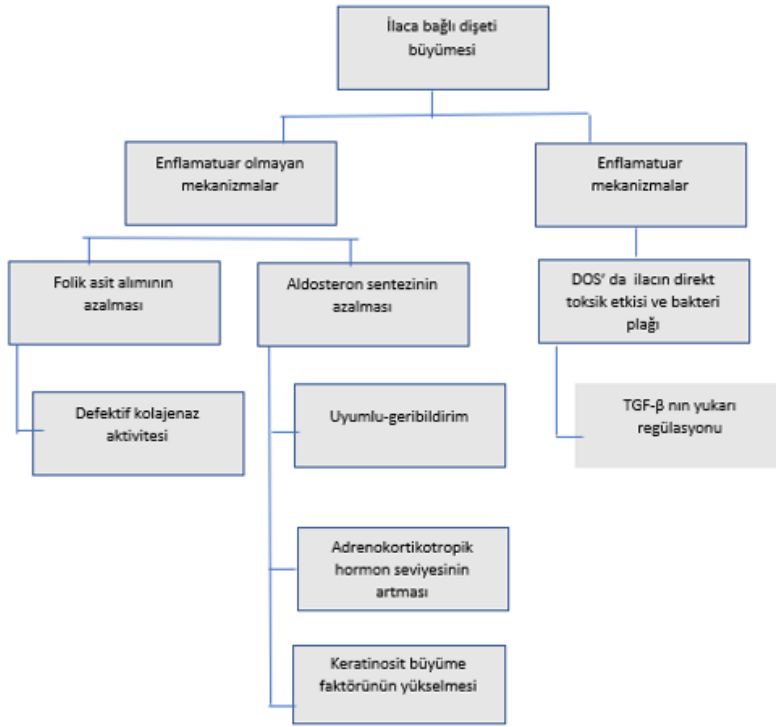
Çeşitli büyüme hormonları ve enflamatuar sitokinlerin gingival fibroblastlara etkisi üzerinde de birçok çalışma yapılmıştır [6]. Sitokin mekanizmasındaki düzensizliklerin dişeti büyümelerinin oluşmasında daha etkin olduğu düşünülmektedir. Gingival fibroblastlarla yapılan çeşitli hücre kültürü çalışmaları fenitoin, nifedipin ve CsA uygulamasının sitokin salınımını ve prostoglandin E2' yi arttırdığını göstermiştir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda dişeti büyümesi gözlenen dokularda spesifik sitokinlerin yüksek seviyede gözlemlendiği tespit edilmiştir. İnterlökin 6 (IL-6), interlökin 1 β (IL-1 β), trombosit kökenli büyüme faktörü- β (PDGF- β), fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) ve bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) ilaca bağlı dişeti büyümelerinde artmış seviyelerde gözlenen sitokin ve büyüme faktörleridir (Trackman ve Kantarcı 2004) [6].

Dişeti büyümesi yapan ilaçların enflamatuar hücrelere (çoğunlukla lenfosit ve makrofajlar) etkisi sonucu bu hücreler tarafından üretilen sitokinlerin ve enflamatuar mediatörlerin üretim mekanizmaları ve birbirleriyle olan dengeleri değişir. Bunun sonucunda da bakterilerin patojenik etkilerine ve doku yaralanmalarına verilen cevap bozulur. Sitokinler, gingival fibroblastların ekstraselüler matriks metabolizmasını ve proliferasyonunu etkiler. Örneğin fenitoina bağlı dişeti büyümesinde TGF- β 1' in fazla salgılanması sonucu gingival fibroblastlar CTGF üretirler. CTGF de ekstraselüler matriks akümüleyonunu düzenler. Fenitoin ve nifedipine bağlı dişeti büyümesi gözlenen dokularda artmış seviyede CTGF gözlenir, ayrıca CTGF' nin yüksek seviyede bulunduğu dokular daha fibrotik karakterdedir [6].

İBDB' nin ardındaki temel mekanizma enflamasyona bağlı olan ve enflamasyona bağlı olmayan yollar içermektedir. Önerilen enflamasyona bağlı olmayan mekanizmalar arasında folik asit alımının azalması, adrenal kortekste aldosteron sentezinin bloke edilmesi ve adrenokortikotropik hormon seviyesinde geri dönüşün artması ve keratinosit büyüme faktörünün yükselmesi nedeniyle defektif kolajenaz aktivitesi yer almaktadır. Enflamasyona

bağlı olan mekanizmada ise enflamasyon, DOS' ta konsantre ilacın doğrudan toksik etkileri ve/ veya bakteriyel plak varlığı sonucu olarak gelişebilir. Bu enflamasyon, TGF- β 1 gibi birçok sitokin faktörün artmasına yol açabilmektedir [67, 75].



Şekil 2.5. İlaça bağlı dişeti büyümesinde enflamatuvar ve enflamatuvar olmayan mekanizmalar

Bu ilaçların dişeti büyümesini tetiklediği mekanizma hala anlaşılamamıştır. Fenitoin ve kalsiyum kanal blokerlerinin, hücre içi Ca^{2+} alımını inhibe ettiği ve böylece gingival fibroblastları uyardığı bulunmuştur. Aynı ilacı alan tüm hastalarda gingival büyüme görülmez. Muhtemel sebep, dişeti büyümesi olan bireylerin ilaca anormal duyarlılığı olan fibroblastlara sahip olmaları olabilir. Farmakolojik olarak uyarılan dişeti büyümesi duyarlılığın, bu ilaçlara bir fibrojenik tepki gösteren her bir bireyin fibroblast alt-kümesinin farklı oranlarının varlığı ile yönetilebileceği de bildirilmiştir. Ayrıca, çeşitli uyarılara yanıt olarak gingival fibroblastlarda fonksiyonel heterojenitenin var olduğu da gösterilmiştir [103].

Klinik olarak ilgili siklosporin dozları, hücre dışı matriks bileşenlerinin birikmesine yol açan matriks metalloproteinazlar-1 ve -3 sekresyonlarının önemli ölçüde azaltılmış seviyelerini sergilemek için gingival fibroblastları tetiklemektedir [104].

Plağa bağlı gelişen gingival enflamasyon ile İBDB oluşumu ve şiddeti arasındaki bağlantıyı açıklayan mekanizmalar önerilmiştir:

Charles ve diğerleri dental plağın varlığının amlodipin gibi dişeti büyümesine neden olan ilaçların birikmesi için bir rezervuar sağlayabileceği sonucuna varmışlardır [105]. İlaçların DOS konsantrasyonlarının plazmada bulunanların 292 katına kadar olduğu bulunmuştur [73].

Amlodipin, kalsiyum iyonlarının hücre içi alımını engeller. Bu engelleyici etki, dişeti fibroblastlarının salgı özelliklerini veya matriks metallo-proteinaz (MMP) -1 ve MMP-3 gibi kolajenazların üretimini etkileyerek hücre dışı matriks birikmesine neden olabilir [63, 106].

Dişeti enflamasyonu ve plak, keratinositlerde proliferatif bir yanıtı indükler ve ilaç birikimi için bir rezervuar sağlar, böylece ilacın dişeti epitel birikimi için lokal kaynak sağlar [107].

Enflamasyonun ilk aşamalarında salınan pro-enflamatuar sitokinler mast hücrelerinin göçünü etkiler. Kimaz ve triptaz içeren mast hücreleri doğrudan dişeti fibrozunda rol oynar [108, 109]. Mast hücreleri, fibroblast proliferasyonunu, hücre dışı matriks sentezini ve bozunmasını etkileyebilen histamin, heparin ve TNF- α gibi araçlar üretir [110]. Dişeti fonksiyonel bir rennin anjiyotensin sistemi (RAS) için gerekli tüm bileşenleri sağlar [111-113]. Anjiyotensin-2 (Ang-2), RAS' ın kolajen sentezinin düzenlenmesinde büyük rol oynayan efektör peptididir ve fibroblastlar üzerinde büyüme düzenleyici etkileri vardır [114-116] .

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, dişeti büyümesi ile epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) arasında olası bir ilişki olduğu gösterilmiştir. EMT, epitel hücrelerinin fibroblast benzeri hücrelere farklılaştığı bir süreçtir. TGF- β 1, çeşitli dokularda EMT' nin güçlü bir indükleyicisidir ve EMT uygulanan hücrelerde CTGF ekspresyonu artar [117].

IL-6, IL-1, PDGF- β , FGF-2, TGF- β ve CTGF dahil olmak üzere büyümüş dişeti dokularında bazı sitokinler ve büyüme faktörleri daha yüksek seviyelerde bulunmuştur [8-10].

Enflamasyon, dişeti büyümesi için gerekli olabilecek fibröz iskele üretiminden sorumlu olan TGF- β 1' in yukarı regülasyonuna neden olur (psodocep gelişimi) [75] . Bu ilaçlar, fibrozise neden olan T hücreleri tarafından IL-2 üretimini uyarabilir [97]. FGF- β ve heparin sülfat glikozaminoglikanlar da İBDB' de rol oynayabilir [97].

2.5. Dişeti Büyümelerine Neden Olan İlaçlar

Dişeti büyümesine neden olabilen ilaçlar terapötik etkilerine göre, antikonvülsanlar, immünosüpresanlar ve kalsiyum kanal blokörleri olmak üzere esas olarak üç ana grupta kategorize edilmektedir [118].

2.5.1. Kalsiyum kanal blokörleri

KKB ilgili araştırmalar, Fatt ve Katz tarafından yengeçlerin geniş kas hücreleri üzerindeki çalışmaları ile ön plana çıkmıştır [119]. Fleckenstein tarafından yapılan sonraki çalışmalar, kalp hastalığı olan bireylerde ve yeni bir ilaç sınıfı olan KKB' de önemli bir terapötik ilerleme sağlamıştır. Kalsiyum antagonistleri terimi ilk defa Fleckenstein tarafından kullanılmıştır [120]. Fleckenstein; kalp ve düz kaslarda kalsiyum akımına karşı özel etkinliği olan bir grup madde (verapamil, nifedipin, gallopamil ve diltiazemdir) tanımlamıştır. Bunlar farklı kimyasal yapıları ve etkinlikleri olan ilaçlardır, fakat hepsi de L tipi kalsiyum kanallarına etki ederek, kalsiyumun hücre içine akışını bloke etmektedirler [121].

2.5.2. Kimyasal yapılarına göre sınıflandırma

Çizelge 2.1. Kalsiyum kanal blokörlerinin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması (Nayler ve Dillon 1986) [122]

Fenilalkinamin Türevleri	Dihidropiridin Türevleri	Benzotiazepin Türevleri
Verapamil	Nifedipin	Diltiazem
Gallopamil	Nimodipin	
Tiapamil	Niludipin	
Anipamil	Nitrendipin	
Ronipamil	Nizoldipin	

Çizelge 2.1. (devam) Kalsiyum kanal blokörlerinin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması
(Nayler ve Dillon 1986) [122]

	Nikardipin	
	Felodipin	
	Amlodipin	

KKB' i farmakolojik özelliklerine göre de sınıflandırılırlar. Sınıf I ilaçlar (fenilalkinamin türevleri, örneğin verapamil) özellikle kalbi etkiler. Güçlü negatif inotropik (kalbin kontraksiyon gücünü azaltırlar) ve negatif kronotropik (kalp atım sayısını azaltırlar) etki gösterirler. Sınıf II ilaçlar (örneğin dihidropridinler) en büyük etkilerini kan damarları üzerine gösterirler, periferik ve koroner vazodilatasyon sağlarlar. Sınıf III ilaçlar (örneğin diltiazem) koroner arterler üzerine hafif veya minimum düzeyde inotropik etki gösterirler.

KKB' i hipertansiyon, vazospastik anjina, supraventriküler aritmi, stabil anjina, akut miyokardiyal infarktüsün bazı formları gibi kardiyovasküler hastalıkların tedavilerinde kullanılmaktadırlar [121, 123].

2.5.3. Farmakolojik özellikleri

KKB; hücre membranındaki kalsiyum kanalları içinden kalsiyum iyonlarının (Ca^{+2}) geçişini azaltarak etki gösterirler. Sodyum ve potasyum kanallarından geçen Na^{+} ve K^{+} iyonlarının fonksiyonu depolarizasyon ve repolarizasyon iken, kalsiyum kanalları içinden geçen Ca^{+2} kimyasal haberci olarak etki gösterirler. Kalsiyum iyonu, hücrede çok çeşitli fonksiyonlara katılan bir hücre içi habercisidir. Bu iyonun çok çeşitli olan aktivitelerine aracılık eden reseptörü kalmodulin adlı proteindir. Bu protein kalsiyumun aktivitelerini değiştirir ve düzenler. Bu nedenle kalmodulin adı verilmiştir. Kalsiyumun fizyolojik aktivitelerine katılan formu iyon (Ca^{+2}) formudur. Kalsiyum atomu, sıvı ortamda iki elektron verir ve iki değerli bir katyon haline gelir. L, T ve N olmak üzere üç çeşit kalsiyum kanalı vardır. Bazı dokular üç tip kalsiyum kanalını içerirler. Dorsal kök ganglionlarının duyu nöronları bu tip dokulardır. Kalp kası hücreleri ve uyarı merkezi (pacemaker) hücreleri L ve T tipi kalsiyum kanallarını içerirler. N tipi kalsiyum kanalları ise sinir uçlarında bulunmaktadır [123]. Bu ilaçlar kalsiyum kanallarının L tipine yüksek affinite gösterirler ve L tipi kanalın, kanalı içeren ana alt-

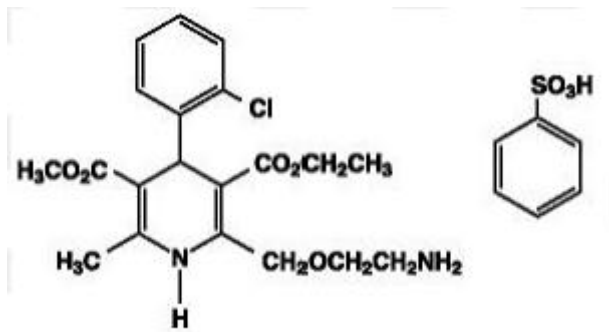
biriminde (alfa-1 alt birimi) yapıcı farklı üç grup ilaç için ayrı bağlanma yerleri bulunur [124, 125].

2.5.4. Kalsiyum kanal blokörlerinin yan etkileri

KKB' ne bağlı sık rastlanan yan etkiler artan periferel vazodilatasyon sonucu oluşmaktadır. Bunlar; baş ağrısı, baş dönmesi, yüz kızarıklığı ve ödemdir. Kabızlık, mide bulantısı ve halsizlik ilacın düz kaslara etkisi sonucu gözlenen yan etkilerdir. Dişeti büyümesi ise nifedipine kullanımına bağlı yan etki olarak ilk defa Lederman ve diğerleri tarafından (1984) tanımlanmıştır (Marshall 1998) [121].

2.6. Amlodipin

Amlodipin, hem hipertansiyon hem de anjinaların tedavisinde kullanılan yeni bir dihidropiridin kalsiyum kanal blokeridir. İlk olarak Ellis ve diğerleri amlodipin ve amlodipin kaynaklı dişeti büyümesinin (ABDB) dişeti sekestrasyonunu bildirmişlerdir [7]. Amlodipin, hipertansiyon ve anjina pectoris tedavisinde sıklıkla kullanılan, nifedipine yapısal olarak benzeyen fakat farmakodinamik olarak onunla karşılaştırılabilir olan üçüncü jenerasyon dihidropiridin kalsiyum antagonistidir [67]. Hipertansif kalp hastalığı olan hastalarda, amlodipin ile ilişkili dişeti büyümesi sıklığı, nifedipin dahil olmak üzere diğer kalsiyum kanalı bloke edici ajanlarla ilişkili olanlardan daha düşüktür[71, 87] .



Şekil 2.6. Amlodipin besilatın açık kimyasal formülü

Amlodipin besilatın kimyasal adı 3-Etil-5-metil(4RS)-2-[(2-aminoetoksi) metil]- 4-(2-klorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat benzen sülfonat olup kapalı formülü

$C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$, moleköl ağırlığı 567,10 g/mol' dır. Beyaz kristal bir toz olan amlodipin besilat tuzu suda ve çok az miktarda da etanolde çözünür, pKa değeri 8,6' dır [126].

Uzun etki süreli bir dihidropiridin türevi olan amlodipin, kan dolaşım sistemindeki düz kas hücre membranında hem voltaja bağımlı hem de frekansa bağımlı kalsiyum kanallarını bloke edip, kalsiyum iyonunun hücre içine geçmesini engelleyerek etkisini gösterir. Kalsiyum iyonlarının hücre içine geçişinin engellenmesi ile kalbin yükü hafifler, oksijen tüketimi azalır ve koroner kan akışı hızlanır. Vazodilatör etki ile genişleyen koroner damarlar miyokardın kanlanmasını artırır. Bu özelliklerinden dolayı hipertansiyonda, stabil ve tipik göğüs ağrıların tedavisinde yararlı etkiler oluşturmaktadır [127].

2.6.1. Amlodipin farmakokinetiği

Amlodipin fizyolojik pH' da pozitif yüklü olup güçlü lipid afinitesine sahiptir. Amlodipinin bu özellikleri daha kısa etkili ve daha az lipofilik ajanlar ile karşılaştırıldığında etki süresinin uzun olmasını açıklar [128]. Yavaş etkili ve uzun aktivite süresi en spesifik avantajıdır [129]. Mutlak biyoyararlanımı %65-90 arasında değişir. Karaciğerde yaklaşık %90' ı metabolize olur ve renal yolla atılır. Yarı ömrü 30-50 saat arasında değişir [130]. Amlodipin, tedavi için gerekli dozlarının oral uygulanmasından sonra iyi absorbe olur ve 6 - 12 saatler arasında kandaki konsantrasyonu en yüksek düzeydedir. Günlük dozu 5–10 mg/gün olup bu dozlarda vazodilatör etkileri çok azdır [129, 131]. Amlodipin'in yaklaşık %97,5' i plazma proteinlerine bağlanır. 7-8 gün içerisinde kararlı durumdaki plazma seviyelerine erişilir. Karaciğerde CYP3A4 tarafından büyük bir kısmı (yaklaşık %90) inaktif metabolite çevrilir [132]. İlacın %10' u ile metabolitlerinin % 60' ı idrarla atılır [133]. Eliminasyonun yarı ömrü yaklaşık 35-48 saattir ve ilacın günde tek doz kullanımı tavsiye edilir [129].

2.6.2. Amlodipinin endikasyonları

Amlodipin hipertansiyon, kronik stabil anjina, vasospastik anjina, myokardial iskemi, konjestif kalp yetmezliği ve reynaud hastalığında kullanılır [133]. Amlodipinin ayrıca antiaterojenik etkisinin de olduğu yapılan klinik çalışmalar ile gösterilmiş olup, yalnızca tansiyonu düşürmekle kalmayıp aterom plakları üzerinde de etki göstererek gelişim ve

büyümesini de önlediği, hipertansiyon ve ateroskleroze bağlı gelişen birçok komplikasyonu da engellediği gösterilmiştir [134, 135]. Yapılan son çalışmalar ile amlodipinin kanserli ve aynı zamanda hipertansiyonlu hastalarda kullanımının çok önemli faydalar sağlayacağı bildirilmektedir. Bu etkininde amlodipinin kanser tedavisinde kullanılan epidermal büyüme faktör reseptör (EDRF) aktivasyonunu sağlayan EDRF kinazın fosforilasyonunu inhibe ederek gösterdiği savunulmaktadır [136] .

2.6.3. Amlodipinin yan etkileri

Amlodipinin yan etkileri; ayak bileği ödemi, baş ağrısı, yorgunluk, çarpıntı, baş dönmesi, bulantı, yüzde kızarma, abdominal ağrı, hafif refleks taşikardi, bilinç kaybı ile oluşan uyuşukluk halidir [133]. Amlodipin hipertansiyon tedavisinde kullanılırken kan noradrenalin seviyelerini yükselterek refleks sempatik aktivasyon oluşturabilir [131]. Hastaların yaklaşık %10' da görülen periferik ödeme en önemli yan etkisidir [137].

Nifedipin kullanan hastalar, amlodipin veya diltiazem kullananlara göre dişeti büyümesinin artmasında daha yüksek risk altındadırlar [7]. Bu ilaçlar yapısal olarak benzerdir (dihidropiridinler), ancak amlodipin daha polarizedir ve hücre zarına nüfuz etmek için karmaşık bir taşıma mekanizması gerektirir. Buna karşılık, nifedipin oldukça lipofiliktir ve hücre zarına hızlı bir şekilde nüfuz eder. İlaç/hücre etkileşimlerindeki bu yapısal farklılıkların, ilaca bağlı diş eti büyümesinin patogenezinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Amlodipin ve nifedipin arasındaki farkları açıklayan diğer bir olası faktör, yarı ömürlerindeki ve dağılım hacmindeki değişimlerdir (amlodipin: 34 saat ve 21 litre/kg; nifedipin: 7,5 saat ve 0,78 litre/kg). Amlodipinin yüksek hacmi, amlodipinin çoğunluğunun dokuya bağlı olduğunu (dolayısıyla 'inaktif') olduğunu ve kanda serbestçe dolaşmadığını gösterir. İlaça bağlı dişeti değişikliklerinin başlatıldığı bir plazma eşiğinin olabileceği öne sürülmektedir [83]. Amlodipin, muhtemelen ilaca bağlı dişeti büyümesini etkileyen, belirgin pik plazma seviyelerini sergilemeye eğilimli olan nifedipinden farklı olarak nadiren bu tür eşik seviyelerine ulaşır.

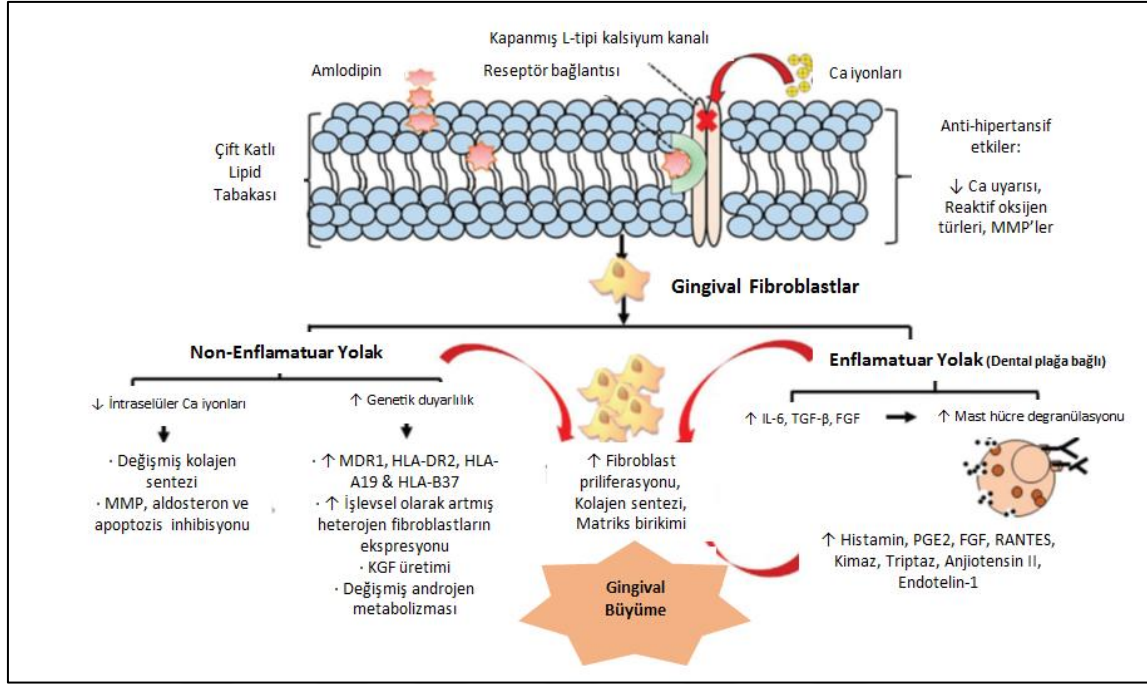
2.6.4. Amlodipine bağı dişeti büyümesi

ABDB çok faktörlü bir yapıya sahiptir ve şiddeti ve görünümü , amlodipinin dozajı, süresi ve kan seviyesinin yanı sıra cinsiyet, genetik yatkınlık (ilaca anormal duyarlılığı olan fibroblastlar ve/veya fonksiyonel fibroblast heterojenliği), ağız hijyeni durumu/önceden mevcut dişeti enflamasyonu ve büyüme faktörleri aktivasyonundan da büyük oranda etkilenir [72, 74, 138].

ABDB' nin arkasındaki temel mekanizma hala tam olarak anlaşılamamıştır. Temel olarak enflamatuar ve enflamatuar olmayan mekanizmaları içeren multifaktöriyel model olarak tanımlanmaktadır [72, 74]. Önerilen enflamatuar olmayan mekanizmalar, matriks metalloproteinazlar-1 ve -3 sekresyonlarının azalmasına bağlı defektif kolajenaz aktivitesini , folik asit alımı, adrenal kortekste zona glomerulosada aldosteron sentezinin bloke edilmesi ve keratinosit büyüme faktörünün yükselmesini içerir [67] .

Dişeti enflamasyonunun, ilaçlar ve fibroblastlar arasındaki etkileşim için gerekli olduğu gösterilmiştir [121]. Bu enflamasyon, dokuda lokalize bir toksik etki ve fibrotik dişeti hiperplazi gelişimini hazırlayıcı FGF-2, TGF- β , IL-6 , IL -1 β ve PDGF gibi çeşitli sitokin faktörlerinin artmasına yol açabilir [5]. Yayılan proinflamatuar sitokinler ayrıca, fibroblast proliferasyonunu, hücre dışı matriks sentezini ve degradasyonu etkileyen, mast hücreleri migrasyonunda yer alır. Ayrıca, amlodipin T-hücreleri tarafından fibrozise neden olarak, IL-2' nin üretimini stimüle edebilir [138].

Enflamasyon ve ABDB arasındaki güçlü ilişki, ABDB 'nin titiz, profesyonel ve bireysel ağız hijyeni ile uzun süreli amlodipin uygulaması altında dahi başarılı bir şekilde kontrol edilebileceğini ortaya koymuştur [71, 139]. Ayrıca, İBDB' nin genel olarak dişsiz bölgeleri etkilememesi de, dişeti büyümesinin varlığının dental plak gibi dentisyondan kaynaklanan enflamatuar faktörlerle ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır [139].



Şekil 2.7. Amlodipine bağlı dişeti büyümesinin mekanizması [140]

Seymour ve diğerleri, ABDB gözlenen 3 erişkin bireyde DOS' ta amlodipine miktarının nifedipine oranla 200 kat daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir [141]. Aynı araştırmacılar, amlodipinin farmakokinetik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, dişeti oluşu sıvılarının gaz kromatografi tekniği ile yapılan değerlendirmesinde, büyümenin gözlemlendiği bireylere ait DOS' da amlodipine varlığı tespit edilmişken, büyümenin gözlenmediği bireylerde amlodipine rastlanmadığını rapor etmişler ve bu sonuçlar ile amlodipine kullanımına bağlı dişeti büyümeleri patogenezi arasında bir ilişkinin olabileceğini bildirmişlerdir [73].

Jorgensen ve diğerleri 1997 yılında, amlodipine kullanımına bağlı olarak gelişen dişeti büyüme görülme sıklığını ortaya koymak amacıyla, en az 6 ay ve günde 5 mg amlodipine kullanan 150 hastanın dahil edildiği bir çalışmada, 150 hastanın 5' inde (%3,3) dişeti büyümesi tespit etmişlerdir [87]. Ellis ve diğerlerinin 1999 yılında yaptığı çalışmada 181 hastanın 3' ünde (%1,7) [7] ve 2010 yılında Ono ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 301 hastanın 4' ünde (%1,3) dişeti büyümesi tespit edilmiştir [142]. Diğer yandan, Lafzi ve diğerleri 2 ay süreyle günde 10 mg amlodipin alan hastalarda dişeti büyümesinin çok hızlı geliştiğini gözlemlemişlerdir [75].

2.7. Sitokinler ve kemokinler

2.7.1. Sitokinler

Sitokinler, bağışıklık “immunité” ve enflamasyonun erken ve ilerleyen dönemlerinde yer alan, konak cevabının süresini ve büyüklüğünü düzenleyen düşük moleküler ağırlıklı (5-70 kDa) proteinlerdir [143]. Geçici olarak üretilmelerine karşın pikomolar konsantrasyonlarda bile etkilidirler ve nispeten düşük sayıda eksprese edilen spesifik hücre yüzey reseptörlerine bağlanırlar [39, 144]. Hücrelerin sitokinlere karşı cevabı; sitokinlerin lokal konsantrasyonu, hücre tipi ve hücrelerin kesintisiz olarak etkileşim içinde bulunduğu diğer düzenleyicilere bağlıdır. Çoğu farklı hücre tipleri üzerine etki eden anlamına gelen, pleotropik olarak tanımlanabilirler [39, 145]. Birçok fizyolojik yanıtta önemli role sahip geniş bir hücre topluluğu tarafından üretilmekle birlikte ana kaynakları T lenfositler ve makrofajlardır [145]. Lenfositler, monositler, makrofajlar, granüositler, epitelyal hücreler, endotelyal hücreler ve fibroblastlar gibi birçok doku tarafından üretilmektedir [58]. Lökositlerin ve diğer hücrelerin hareketini, değişimini, büyümesini düzenleyerek enflamatuvar ve immün reaksiyonlarda rol alırlar [146]. Yara iyileşmesi, kemik formasyonu, hematopoez gibi birçok biyolojik olayda da etkileri mevcuttur [147].

Sitokinler lokal veya sistemik olarak etki ederler. Sentezlendikleri hücre üzerine etkileri *otokrin etki*, komşu hücre üzerine gösterdikleri etkileri *parakrin etki* ya da hormonlar gibi kana karışarak diğer doku veya organlara olan etkileri *endokrin etki* olarak adlandırılmaktadır [146, 148].

Sitokinler , *enflamatuvar ve bağışıklık reaksiyonlarında rol alan sitokinler ve doku gelişimi ve tamirinde rol oynayan sitokinler* olmak üzere iki ana grupta değerlendirilir:

Birinci grup sitokinler lökositler arasında bilgi aktarımını sağlayan “interlökinler”, lenfosit aktivitesini etkileyen “interferonlar” ve hücrelerin enflamasyon bölgesine yönlendirilmesinde rol oynayan yani kemotaksiste görevli olan “kemokinler” olarak alt gruplara ayrılır. İkinci grup sitokinler ise büyüme faktörleri ve koloni stimüle edici faktörler olarak sınıflandırılabilirler [44].

Sitokinler proenflamatuar (hastalığın ilerlemesini teşvik edebilen) veya antienflamatuar (hastalığı baskılayabilen) önemli mediatörlerdir [149].

Sitokinler enfeksiyöz ve enflamatuar hastalıkların doku yıkımında direkt olarak, immünoenflamatuar hücrelerin aktive edilmesinde de indirekt olarak önemli rol oynamaktadır. Proenflamatuar ve antienflamatuar sitokinler arasındaki dengenin bozulması doku yıkımının devam etmesine neden olmaktadır [148].

Proenflamatuar sitokinlerin sekresyonuna neden olan genetik düzenleme genellikle, nükleer faktör kappa-B transkripsiyonunun aktivasyonuna bağlıdır. Nükleer faktör kappa B nin düzenlediği yollar, LPS tarafından toll like reseptör (TLR) yoluyla aktive edilmektedir [150].

Sitokinler, epitelyal hücreler ve fibroblastlar gibi hücreler tarafından; enflamasyonun akut ve erken fazında nötrofil ve makrofajlar (fagositler); yerleşmiş ve ileri lezyonlarda immün hücreler (lenfositler) tarafından üretilmektedirler [151].

Çizelge 2.2. Bağışıklık tepkisine göre sitokinlerin sınıflandırılması. Sitokinler, adaptif immün tepkinin hücreleri üzerinde etkili olup olmadıklarına veya enflamasyonu teşvik edip etmediklerine göre geniş bir şekilde gruplandırılabilir. Ayrıca, sinyal verme için kullanılan reseptörlere göre sınıflandırılabilirler

	Aile	Üyeler
Adaptif bağışıklık	Ortak γ zinciri reseptör ligandları	IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21
	Ortak β zinciri (CD131) reseptör ligandları	IL-3, IL-5, GM-CSF
	Paylaşılan IL-2 β zinciri (CD122)	IL-2, IL-15
	Paylaşılan reseptörler	IL-13 (IL-13R – IL-4R kompleksi)
		TSLP (TSLPR – IL-7R kompleksi)
Pro-enflamatuar sinyal	IL-1	IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra, IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ , IL-36Ra, IL-37 ve IL-1Hy2
	IL-6	IL-6, IL-11, IL-31, CNTF, CT-1, LIF, OPN, OSM
	TNF α	TNF α , TNF β , BAFF, NİSAN
	IL-17	IL-17A-F, IL-25 (IL-17E)
	Tip I IFN	IFN α , IFN γ , IFN γ , IFN γ , Limitin
	Tip II IFN	IFN γ

Çizelge 2.2. (devam) Bağışıklık tepkisine göre sitokinlerin sınıflandırılması. Sitokinler, adaptif immün tepkinin hücreleri üzerinde etkili olup olmadıklarına veya enflamasyonu teşvik edip etmediklerine göre geniş bir şekilde gruplandırılabilir. Ayrıca, sinyal verme için kullanılan reseptörlere göre sınıflandırılabilirler

	Tip III IFN	IFN λ 1 (IL-29), IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B)
Anti-enflamatuar sinyal	IL-12	IL-12, IL-23, IL-27, IL-35
	IL-10	IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, IL-29

Çizelge 2.3. Sitokinlerin fonksiyonları

	Sitokin	Ana kaynaklar	Hedef hücre	Ana işlev
İnterlökinler	IL-1	Makrofajlar, B hücreleri, DC'ler	B hücreleri, NK hücreleri, T hücreleri	Pirojenik, proenflamatuar, proliferasyon ve farklılaşma, BM hücre proliferasyonu
	IL-2	T hücreleri	Aktive edilmiş T ve B hücreleri, NK hücreleri	Proliferasyon ve aktivasyon
	IL-3	T hücreleri, NK hücreleri	Kök hücreler	Hematopoetik öncü proliferasyonu ve farklılaşması
	IL-4	Th hücreleri	B hücreleri, T hücreleri, makrofajlar	B ve sitotoksik T hücrelerinin çoğalması, MHC sınıf II ekspresyonunu artırır, IgG ve IgE üretimini uyarır
	IL-5	Th hücreleri	Eozinofiller, B hücreleri	Proliferasyon ve matürasyon, IgA ve IgM üretimini uyarır
	IL-6	Hücreler, makrofajlar, fibroblastlar	Aktive edilmiş B hücreleri, plazma hücreleri	Plazma hücrelerine farklılaşma, IgG üretimi
	IL-7	BM stromal hücreleri, epitel hücreleri	Kök hücreler	B ve T hücre büyüme faktörü
	IL-8	Makrofajlar	Nötrofiller	Kemotaksis, proenflamatuar
	IL-9	T hücresi	T hücresi	Büyüme ve yayılma
	IL-10	T hücresi	B hücreleri, makrofajlar	Sitokin üretimini ve mononükleer hücre fonksiyonunu inhibe eder, antiinflamatuar
	IL-11	BM stromal hücreleri	B hücreleri	Farklılaşma, akut faz proteinlerini indükler
	IL-12	T hücreleri	NK hücreleri	NK hücrelerini etkinleştirir
Tümör nekroz faktörleri	TNF-α	Makrofajlar	Makrofajlar	Fagosit hücre aktivasyonu, endotoksik şok
		Monositler	Tümör hücreleri	Tümör sitotoksitesi, kaşeksi
	TNF-β	T hücreleri	Fagositler, tümör hücreleri	Kemotaktik, fagositöz, onkostatik, diğer sitokinleri indükler
İnterferonlar	IFN-α	Lökositler	Çeşitli	Antiviral
	IFN-β	Fibroblastlar	Çeşitli	Anti-viral, anti-proliferatif

Çizelge 2.3. (devam) Sitokinlerin fonksiyonları

	IFN-γ	T hücreleri	Çeşitli	Anti-viral, makrofaj aktivasyonu, hücrelerde nötrofil ve monosit fonksiyonunu, MHC-I ve -II ekspresyonunu artırır
Koloni uyarıcı faktörler Diğerleri	G-CSF	Fibroblastlar, endotel	BM'deki kök hücreler	Granülosit üretimi
	GM-CSF	T hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar	Kök hücreler	Granülosit, monosit, eozinofil üretimi
	M-CSF	Fibroblast, endotel	Kök hücreler	Monosit üretimi ve aktivasyonu
	Eritropoietin	Endotel	Kök hücreler	Kırmızı kan hücresi üretimi
	TGF-β	T hücreleri ve B hücreleri	Aktif T ve B hücreleri	T ve B hücre proliferasyonu inhibisyonu, hematopoez inhibisyonu, yara iyileşmesini teşvik etme

2.7.2. Kemokinler

Kemokinler, spesifik reseptörlere bağlanarak enflamasyon ve homeostazda spesifik lökosit alt gruplarının kemotaksisini uyararak “kemotaktik sitokin” lerdir [152]. İnsan vücudunda birçok olayda merkezi rol oynayan, sitokine benzer şekilde hücrelerde hazır bulunan ya da uyarı sonucu üretilen salgı proteinleridir [153]. Yapılan ilk çalışmalar sonucunda, kemokinler lökosit trafiğinin düzenleyicileri olarak tanımlansalar da daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar kemokinlerin fibrozis, doku remodelingi ve angiogenezis gibi birçok enflamatuvar süreçte rol oynadığına işaret etmektedir [154]. Kemokinler nötrofillerin, lenfositlerin ve monosit/makrofaj kökenli birçok hücre ve dendritik hücreleri de içeren antijen sunan hücrelerin migrasyonunu düzenlemekte enflamatuvar saldırıya yanıt olarak doğal (innate immunity) ve adaptif bağışıklığın farklı basamaklarında lökositlerin toplanması, aktivasyonu ve yönlendirilmesini koordine etmektedir [155, 156] . Enflamasyonda bölgedeki koruyucu hücreler kemokinleri salgılayarak kan damarları etrafındaki kemotaktik eğilimi düzenlemektedir [156, 157]. Endotel hücrelerinin üzerindeki kemokinler lökositlerin yuvarlanma ve transendotelial migrasyonunu uyarmaktadır. Kemokinlerin konsantrasyonundaki bu değişim migrasyon yapan hücrelerin yüzeyinde hücre içi sinyal moleküllerinin toplanmasını artırırken, diğer taraftan kemokin reseptörleri de migrasyon esnasında plazma membranında düzenli ve eşit oranda dağılmaktadır [153, 158].

Fonksiyonel olarak kemokinler *enflamatuvar* ve *homeostatik* kemokinler olmak üzere iki ana alt grupta toplanabilirler. Enflamatuvar kemokinler lökositlerin enflamasyon ve doku hasarının olduğu bölgeye toplanmasını kontrol ederken, homeostatik kemokinler hematopoez esnasında olgunlaşan antijen sunan hücrelerin, lökositlerin sekonder lenfoid organlara, kemik iliği ve timüse yönlendirilmesinden sorumludur. Homeostatik kemokinler hücrede hazır olarak bulunurken, enflamatuvar kemokinlerin açığa çıkması için enflamatuvar ve immun uyarılar gerekmektedir [159, 160].

Kemokinlerin ekspresyon veya fonksiyonlarındaki değişimler enflamatuvar reaksiyonun sürekliliğini sağlayarak kronik enflamasyonun yerleşmesi gibi birçok patojenik olayda anahtar role sahip olabilmektedir [161]. Damarsal ve neoplastik hastalıklar, alerjik reaksiyon, organ reddi ve otoimmün hastalıklar gibi enfeksiyöz durumlarda kemokinler önemli rol oynamaktadır [161].

Kemokinlerin Moleküler Yapısı

Kemokinler, 8-14 kDa moleküler ağırlığa sahip protein yapısındaki molekülüdür. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda insanlarda yaklaşık olarak 50 kadar kemokin ve 20 G-protein-bağlı “G-protein-coupled” kemokin reseptörü tanımlanmıştır [161]. Çoğu kemokinler oldukça karmaşık yapıda en az dört sistein molekülü ve üç farklı alan “domain” içermektedir: (1) yüksek esneklikteki N-terminal alanı “N-terminal domain”, iki “N-terminal domain sistein”den meydana gelen disülfid bağları ile molekülün kalan kısmına bağlanır, (2) Bunu üç antiparalel β -kırmalı “pleated” tabakaya (Grek anahtarı) uzanan uzun bir düğüm takip eder, (3) Bu da C-terminal α -“helix” sarmalına uzanan düz bir tabanı oluşturur [153, 159]. Kemokinler, genetik organizasyonlarına ve N-terminusta iki farklı korunmuş sistein kalıntıları “residue”lerinin pozisyonuna göre CC, CXC, C ve CX3C aileleri olmak üzere dört alt gruba ayrılmaktadır [162].

CXC ve CC kemokinler (sırasıyla α ve β kemokinler) ilk keşfedilen kemokinlerdir ve en iyi tanımlanmış kemokin gruplarını oluşturur. Bu iki grup dört korunmuş sistein içermektedir; bunlardan iki sistein molekülü bir aminoasit ile ayrılmakta (CXC) veya iki sistein molekülü komşu olmaktadır (CC). Her iki kemokin ailesindeki disülfid köprüleri CXC kemokinlerde

birinci ve üçüncü sistein molekülüleri arasında, CC kemokinlerde ise ikinci ve dördüncü sistein molekülüleri arasında oluşmaktadır [152, 163]. Interlökin-8 CXC kemokinlerin ilk örneğidir, diğer taraftan MCP-1 ise CC kemokini en iyi şekilde tanımlamaktadır. Lenfotaktin iki korunmuş sistein molekülü içerir ve fraktalkin/nörotaktin ise membrana bağımlı glikoprotein yapısındadır; bunlar sırasıyla C ve CX3C kemokinlerinin örnekleridir [152, 163]. CXC kemokinler yapısal olarak N terminallerinden birinci sistein molekülüne kadar glutamik asit-lösin-arjinin aminoasit “glutamic acid-leucine-arginine” (GluLeu-Arg) dizilimi gösterenler (ELR motif+) ve göstermeyenler (ELR motif-) olarak da iki alt gruba ayrılırlar. Glutamik asit-lösin-arjinin diziliminin varlığı (ELR+) yapısal sınıflandırma ile sağlam fonksiyonel bağ kurmakta, (ELR+) CXC kemokinler nötrofiller için spesifik olmaktadır [164]. Birçok CXC kemokinleri nötrofil granüllerini aktive ederken, CC kemokinleri monositler, T lenfositler, doğal öldürücü “natural killer”(NK) hücreler, eozinofiller, bazofiller ve dentritik hücreler gibi birçok hücre üzerine etki etmektedirler [163]. Kemokinlerin aminoasit dizilimleri, aynı zamanda sekonder ve tersiyer yapıları da birbirine çok benzemektedir. Yapılan yapı-fonksiyon ilişkisini inceleyen çalışmalar kemokinlerin reseptörlere bağlanmalarında ve aktivasyonlarında N-terminal bölgelerinin önemli olduğunu göstermektedir [165].

Kemokin Reseptörleri

Kemokin reseptörleri heterodimerik G-proteinleri ile çiftler oluşturan 7transmembran alan “domain” reseptörlerdir. Kemotaktik eğilim süresince hedef hücrelerin migrasyonunun uyarılması için heterodimerik G-proteinlerinden $\beta\gamma$ alt ünitlerinin salınımının gerçekleşmesi gerekmektedir. Bu salınım neticesinde fosfoinositit’ e özgü fosfolipaz C izoenzimi aktive olmakta, inositol-1,4,5-trifosfat oluşumu ve hücre içi kalsiyum artışı ile sonuçlanmaktadır [166].

Kemokin/ kemokin reseptör sistemlerinin gereğinden fazla olması nedeniyle birçok kemokin reseptörünün birden fazla kemokine bağlanması ve çoğu kemokin de birçok farklı kemokin reseptörüne bağlanabilmesi, kemokinlerin önemli bir özelliğidir. Çoğu kemokin reseptörü birden fazla kemokini tanıyabilmesine karşın, neredeyse tamamı her zaman tek bir kemokin alt sınıfı ile sınırlandırılmaktadır. Bu nedenle sınıflandırma

sisteminde kemokin reseptörlerinin kemokin alt sınıflarına özgüllüğü esas alınmıştır. İnsan CC ve CXC kemokin reseptörleri, sırasıyla CCR ve CXCR olarak isimlendirilmekte ve devamında numaralandırılmaktadır. Lenfotaktin ve fraktalkin reseptörleri, sırasıyla XCR1 ve CX3CR1 ile kodlanmaktadır. Reseptör isimlerine benzer olarak kemokinler sistin alt sınıflarını esas almakta devamında “Ligand” için bir “L” harfi ve sayı vererek numaralandırılmaktadır [164].

Çizelge 2.4. Kemokin aileleri. İnsan ligandları için en yaygın isimler listelenmiştir

	Sistemik ad (ortak ad)	Reseptör
CC kemokin / reseptör ailesi	CCL1 (I-309)	CCR8, R11
	CCL2 (MCP-1, MCAF)	CCR2
	CCL3 (MIP-1 α / LD78 α)	CCR1, R5
	CCL3L1 (LD78 β)	CCR5
	CCL4 (MIP-1 β)	CCR5
	CCL4L1	CCR5
	CCL4L2	CCR5
	CCL5 (RANTES)	CCR1, R3, R4, R5
	CCL6 (C-10)	CCR1, R2, R3
	CCL7 (MCP-3)	CCR1, R2, R3
	CCL8 (MCP-2)	CCR1, R2, R5, R11
	CCL9 (MRP-2 / MIP-1 γ)	CCR1
	CCL10 (MRP-2 / MIP-1 γ)	CCR1
	CCL11 (Eotaxin)	CCR3
	CCL12 (MCP-5)	CCR2
	CCL13 (MCP-4)	CCR1, R2, R3, R11
	CCL14 (HCC-1)	CCR1
	CCL15 (HCC-2, Lkn-1)	CCR1, R3
	CCL16 (HCC-4, LEC)	CCR1
	CCL17 (TARC)	CCR4
	CCL18 (DC-CK1, PARC)	Bilinmeyen
	CCL19 (MIP-3 β , ELC)	CCR7, R11
	CCL20 (MIP-3 α , LARC)	CCR6
	CCL21 (6CKine, SLC)	CCR7, R11
	CCL22 (MDC, STCP-1)	CCR4

Çizelge 2.4. (devam) Kemokin aileleri. İnsan ligandları için en yaygın isimler listelenmiştir

	CCL23 (MPIF-1)	CCR1
	CCL24 (MPIF-2, Eotaxin-2)	CCR3
	CCL25 (TECK)	CCR9, R11
	CCL26 (Eotaksin-3)	CCR3
	CCL27 (CTACK, ILC)	CCR2, R3, R10
	CCL28 (MEC)	CCR3, R10
C kemokin / reseptör ailesi	XC11 (Lenfotaktin)	XCR1
	XC12 (SCM1-b)	XCR1
CXC kemokin / reseptör ailesi	CXCL1 (GRO α , MGSA- α)	CXCR2 > R1
	CXCL2 (GRO β , MGSA β)	CXCR2
	CXCL3 (GRO γ , MGSAY)	CXCR2
	CXCL4 (PF4)	CXCR3
	CXCL4L1 (PF4V1)	CXCR3
	CXCL5 (ENA-78)	CXCR1, R2
	CXCL6 (GCP-2)	CXCR1, R2
	CXCL7 (NAP-2)	CXCR2
	CXCL8 (IL-8)	CXCR1, R2
	CXCL9 (Mig)	CXCR3
	CXCL10 (IP-10)	CXCR3
	CXCL11 (I-TAC)	CXCR3
	CXCL12 (SDF-1 α / β)	CXCR4, R7
	CXCL13 (BLC, BCA-1)	CXCR3, R5
	CXCL14 (FREN, bolekin)	Bilinmeyen
	CXCL15	Bilinmeyen
	CXCL16 (SR-PSOX)	CXCR6
	CXCL17 (VCC1, DMC)	Bilinmeyen
CX3C kemokin / reseptör ailesi	CX3CL1 (Fractalkine)	CX3CR1

2.8. Sitokinler ve İlaça Bağlı Dişeti Büyümesi

Dişeti dokuları genellikle kemotaktik faktörlerin, enflamatuar hücre aktivasyonu ve doku rezorpsiyonunun, replasmanının ve yeniden şekillenmesinin tekrarlayan döngülerini içeren

bir yaralanma ve onarım durumundadır [167]. Kolajen turnoverı periodontal dokularda alışılmadık şekilde yüksektir [168].

Yara iyileşmesi ve bağ dokusu döngüsü büyük ölçüde makrofajlar ve lenfosit gibi enflamatuar hücreler tarafından salınan sitokin ve kemokinler ve daha az oranda fibroblastlar tarafından kontrol edilmektedir. Bağ dokusu hücrelerinin farklılaşması ve çoğalması ve ekstraselüler matriks üretimi, spesifik reseptörlerin aracılık ettiği sinyal yollarını başlatan sitokinler tarafından kontrol edilmektedir [6]. Ayrıca, hücre dışı matriks elemanları, sinyal yollarını başlatan veya modüle eden integrinler dahil hücre yüzeyi reseptörleri ile etkileşime girer [167, 169].

2.8.1. TNF- α

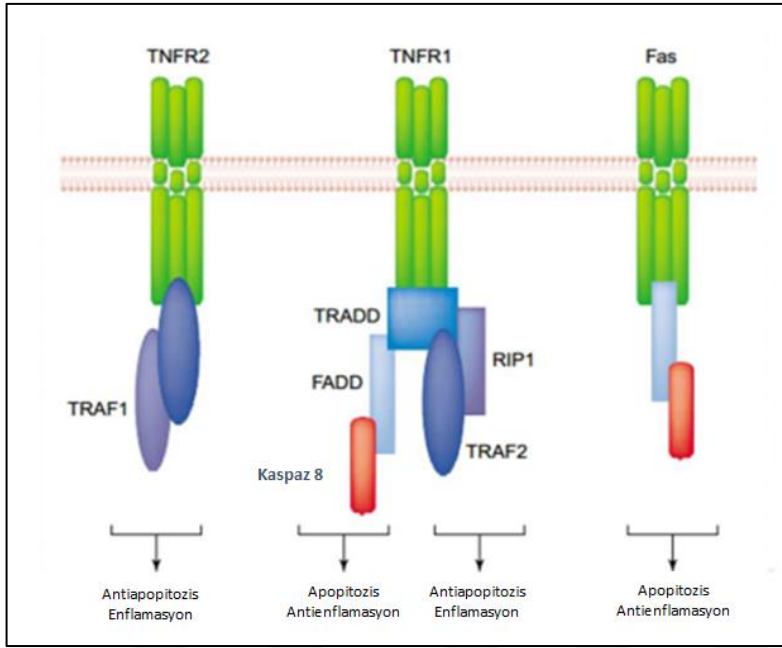
İlk olarak tümoral yapıların nekrozuna yol açan dolaşım faktörü olarak tanımlanan bu sitokin daha sonra enflamatuar yanıtın anahtar düzenleyicisi olarak kabul edilmiştir. TNF- α ilk defa 1975 yılında farelere transplante edilmiş olan sarkomaların hemorajik nekrozuna neden olan endotoksinlerin indüklediği glikoprotein olarak tanımlanmıştır [170]. 1985' te ise insan tümör nekroz faktörü klonlanmıştır [171]. TNF- α hücre göçünden, doku yıkımına birçok fonksiyona sahip, çoklu etkisi olan bir sitokindir. TNF- α , enflamatuar sürecin erken aşamasında bakterilerin istilasına yanıt olarak mast hücreleri tarafında salınmaktadır. TNF- α , adezyon moleküllerini arttırmak yoluyla nötrofillerin damar duvarına yönelmesini ve yapışmasını sağlayarak hücre göçünü etkilemekte ve böylece PMNL' nin damar dışına çıkışına neden olmaktadır. TNF- α enflame ve enfekte yüzeylere doğru gerçekleşen hücre göçüyle ilişkili olan kemokinlerin üretimini de uyarmaktadır [172, 173]. TNF- α ' ya çeşitli enflamatuar, enfeksiyöz ve malign durumlarda dikkat çekilmiş ve enflamatuar durumları kontrol etmede anti TNF antikorların ve çözünebilir TNF reseptörlerinin uygulamasının etkinliği sayesinde TNF' in enflamasyondaki önemi açığa kavuşmuştur [174].

TNF- α yüksek seviyeleri, septik şok sendromu, otoimmün hastalıklar, lösemi, myokondrial iskemisi, organ transplantasyonu reddi, multipleskleroz ve romatoid artrit gibi birçok patolojik durumla ilişkilidir. TNF- α tarafından tetiklenen septik şok sendromu adlı enfeksiyöz hastalık sonucu yaşamını yitiren birçok insan vardır [175]. TNF- α dönüştürücü

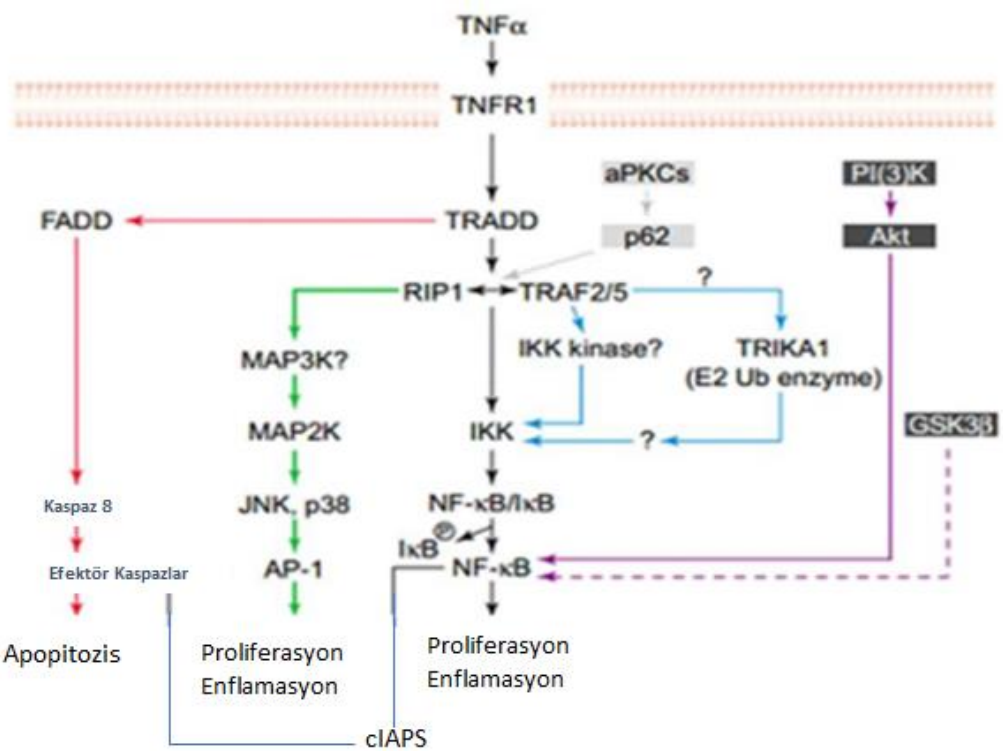
enzim (TACE) hücre yüzeyinden TNF salınımını yönlendirmektedir [176]. TNF çoğunlukla sağlıklı bireylerde belirlenemezken; enflamasyon ve enfeksiyon durumlarında serumda ve dokuda artmış seviyelerde bulunmaktadır [177]. Monosit/ makrofaj dizisindeki hücrelerin TNF' in temel kaynakları olmasının yanısıra, T ve B lenfositler, doğal öldürücü hücreler, nötrofiller, endotelial hücreler, fibroblastlar ve osteoklastlar da TNF üretebilmektedirler.

TNF sinyal yolları komplekstir. Transkripsiyon faktörü nükleer faktör kappa B' nin (NF- κ B) düzenlenmesi TNF sinyal transdüksiyonunun anahtar bileşenidir. TNF' ye karşı oluşan yanıtlar, TNFR1 ve TNFR2 adlı reseptörlerden birine bağlanmasıyla oluşmaktadır [178]. TNFR1 ve TNFR2 nin birbirine benzer ve birbirinden farklı moleküllerle ilişkiye girebilmesi, farklı ve çeşitli fonksiyonları açıklayabilmektedir. Yapılan hücre kültürü çalışmalarına göre ,TNF tarafından aktive edilen pro-enflamatuar ve programlanmış hücre ölüm yolları çoğunlukla TNFR1 yoluyla yönlendirilmektedir. TNFR2 sinyalinin sonuçları daha az karakterize olmakla birlikte doku onarımı ve angiogenezi arttırdığı gösterilmiştir [179].

TNFR1 ve Fas apoptotik ve anti-enflamatuar sinyalleri Fasla ilişkili ölüm domain proteini (FADD)' ın katılımı ve sonuç olarak caspas 8 aktivasyonu yoluyla transdükte olur. TNFR1 aynı zamanda TNF reseptörlerle ilişkili faktör 2 (TRAF2) ve reseptör integrin protein 1 (RIP1)' in katılması yoluyla enflamatuar ve antiapoptozis yanıtını yönlendirmektedir. TNF reseptör ailesini, TNFR2, TRAF2 ve TRAF 1 gibi üyeleri antiapoptotik ve enflamatuar sinyalleri iletirler (Şekil 8).



Şekil 2.8. TNF reseptörü (TNFR1), TNFR2 ve FAS sinyal transdüksiyon yollarının uç bileşenleri ve programlı hücre ölüm inhibisyonu ve enflamasyon aktivasyonu ile ilişkileri [180]



Şekil 2.9. TNF-α sinyali yolunun TNFR1' den transkripsiyon faktörü AP1 ve NF-κB ye kadar olan bileşenlerinin şeması [180]

TNF' ye yanıt olarak endotelyal hücreler, E-selektin, hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM) ve vasküler hücre adezyon molekülünü (VCAM-1) de içeren adezyon moleküllerinin farklı kombinasyonlarını göstererek enflamasyonu arttırmaktadır [179]. Bu yanıtlar kemokinlerin salınımıyla, antijen tanınmasından bağımsız olarak lökositlerin artmasına neden olur [174]. Enflamasyonun bir çok klasik özelliği TNF' nin endotelyal hücreler üzerindeki lokal etkileriyle oluşmaktadır. TNF' nin indüklediği siklooksijenaz 2 ekspresyonu, prostoglandin I2 (PGI2) üretimini arttırarak vazodilatasyona ve sonuç olarak artan lokal kan akımıyla enflamasyonun belirtisi olan kızarıklık, ödem ve ısı artışına neden olmaktadır [174].

Prostoglandinler, membran fosfolipidlerinin hidrolizi ile sentezlenirler. Araşidonik asit 2 ana enzim yolu olan lipooksijenaz ve siklooksijenaz ile metabolize edilmektedir [181]. Prostoglandin E2 (PGE2), alveoler kemik rezorbsiyonunun güçlü bir uyarıcısıdır. Periodontal ligament hücreleri, makrofaj benzeri hücreler PGE2 sekresyonu yapmaktadır. Bu salınım TNF α , IL-1 β ve paratiroid hormonu tarafından arttırılmaktadır [182]. PGE2, yüksek dozlarda IgG seviyesini düşürmekteyken, düşük seviyelerde bu seviyeyi arttırmaktadır [183]. TNF- α , IL-1 ve PGE2 sentezini indüklemekte ve böylece kemik rezorbsiyonu artmaktadır. TNF- α 'nın IL-1 β ile kemik rezorbsiyonu üzerinde sinerjistik etkileri bildirilmiştir [175].

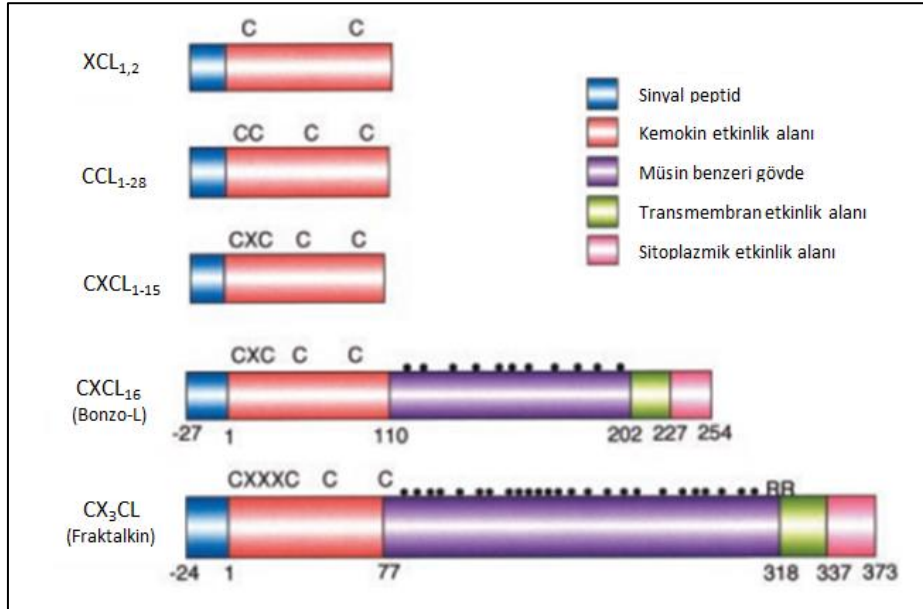
Fizyolojik olarak TNF, enfeksiyona normal yanıt için önemlidir fakat uygun olmayan veya aşırı üretiminin zararlı etkileri olabilmektedir. TNF' nin enfeksiyona karşı konak yanıtın modülatörü olarak önemi, TNF reseptörü eksik fareler kullanılarak yapılan çalışmalarda doğrulanmıştır [184]. Hücrelerin TNF α ' ya maruziyeti, apoptozise yol açan kaspaz yolunun aktivasyonuna neden olmaktadır. Fakat, TNF- α 'nın reseptörlerine bağlanması, aktivatör protein 1 (AP-1) ve NF- κ B adlı 2 majör transkripsiyon faktörünün aktivasyonuna ve böylece kronik ve akut enflamatuvar yanıtta rol alan genlerin indüklenmesine neden olur [180].

NF κ B transkripsiyonel aktivitesi, TNF- α ' ya duyarlı olan protein kinazlarla fosforilasyonu yoluyla yönlendirilmektedir. TNF- α 'nın TNFR1' e bağlanması, adaptör protein TRADD yoluyla TRAF2/5, RIP1 ve FADD' ın katılımı sonuçlanır. FADD caspaz 8' i aktive eder ve apoptozise yol açar. TRAF2/5 ve RIP1 protein kinazlardan JNK, p38 ve IKK'nın aktivasyonu yoluyla AP1 ve NF κ B'nin aktivasyonuna yol açar. NF κ B hedefli genlerin bir kısmı caspaz aktivasyonunu inhibe eder ve apoptotik yanıtı baskılar [180] (Şekil 9).

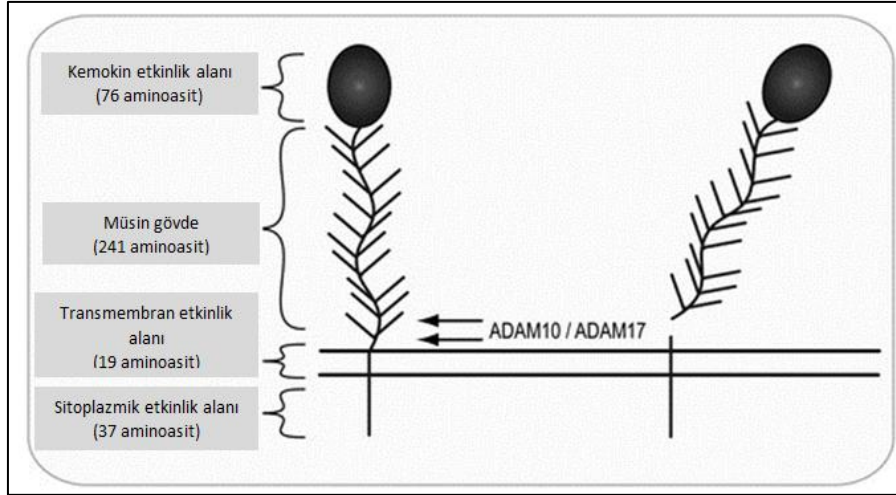
DOS' da TNF- α seviyelerinin periodontal hastalık belirtici olarak kullanılabileceğini ilk olarak Rossomando ve diğerleri 1990 yılında yayınlanan çalışmalarında belirtmişlerdir [185]. Daha sonraki zamanlarda DOS' da TNF- α seviyelerinin değerlendirildiği birçok çalışma yapılmıştır [175, 186-189]. Bu çalışmalarda gingivitiste [175, 186, 187] ve kronik periodontitiste [175, 186, 188-190] DOS' da artmış TNF- α seviyeleri rapor edilmiştir.

2.8.2. Fraktalkin

Fraktalkin (CX3CL1) adı ilk olarak Bazan ve diğerleri tarafından yeni keşfedilen bir kemokini tanımlamak için kullanılmıştır (1997) [13]. Mevcut terminolojide yapı bakımından CX3CL1, CX3C alt ailesinin tek temsilcisidir [191]. İnsan genomunda, CX3CL1 geni, 16q13 loküsünde lokalizedir [192]. CX3CL1' in kimyasal yapısı, molekülün tersiyer yapısını stabilize eden disülfid köprülerini oluşturan iki sistein kalıntısı arasındaki üç amino asit tortusundan oluşan bir motif içermesi bakımından benzersizdir [13, 193]. İki fraktalkin izoformu ortaya çıkar: Çözünür bir form (sitosol ile ilişkili) ve hücre zarına bağlanmış bir form (membran bağlantılı); (Şekil 10) [13, 193]. Vücutta iki fraktalkin formunun varlığı, bugüne kadar başka herhangi bir kemokinle benzer olmayan kemokin ağındaki özel rolünü açıklar.



Şekil 2.10. Fraktalkinin şematik yapısı [194]



Şekil 2.11. Fraktalkin yapısı ve bölünmesinin şematik gösterimi. Fraktalkin, 76-amino asit kemokin alanı, hücre yüzeyine ağır glikosile edilmiş bir müsin sapı yoluyla bağlanmış bir membrana bağlı molekül olarak eksprese edilir. Bölünmeye, ADAM10 ve ADAM17 proteazları tarafından homeostatik ve enflamatuvar koşullar altında aracılık edilebilir. ADAM10 aracılı yarıma, müsin sapının tabanının yakınında en az 2 bölgede meydana gelebilir [195] .

Çözünür fraktalkin, NK hücreleri, T hücreleri, monositler ve mast hücreleri için kemotaktik bir faktördür [196]. Ayrıca anjiyogenez ve endotel hücre kemotaksisinde çözünür fraktalkin katkısı kanıtlanmıştır [197].

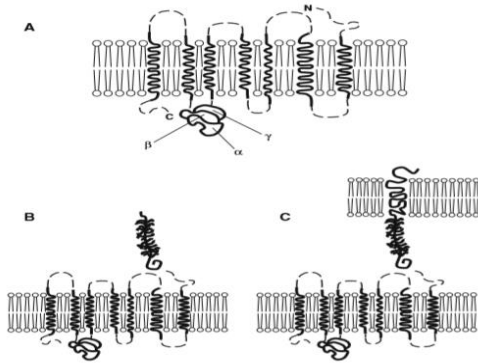
Lokal fraktalkin sentezi ve ekspresyonu, proinflamatuvar sitokinler (interlökin (IL) -1 β , interferon (IFN) - γ , TNF- α , lipopolisakkarit (LPS) varlığı, doku oksijen basıncı ve oto ve parakrin otoregülasyon gibi bir dizi faktörle düzenlenir [198-200]. Tüm bu faktörler, fraktalkin üretiminin artmasına veya azalmasına yol açan bir hücre içi haberciler ve transkripsiyon faktörleri ağını aktive eder [201].

Fraktalkin CX3C kemokin ailesinin bilinen tek üyesidir. Fraktalkin (insanlarda), farelerde nevrotaktin olarak da yaygın şekilde bilinir [202].

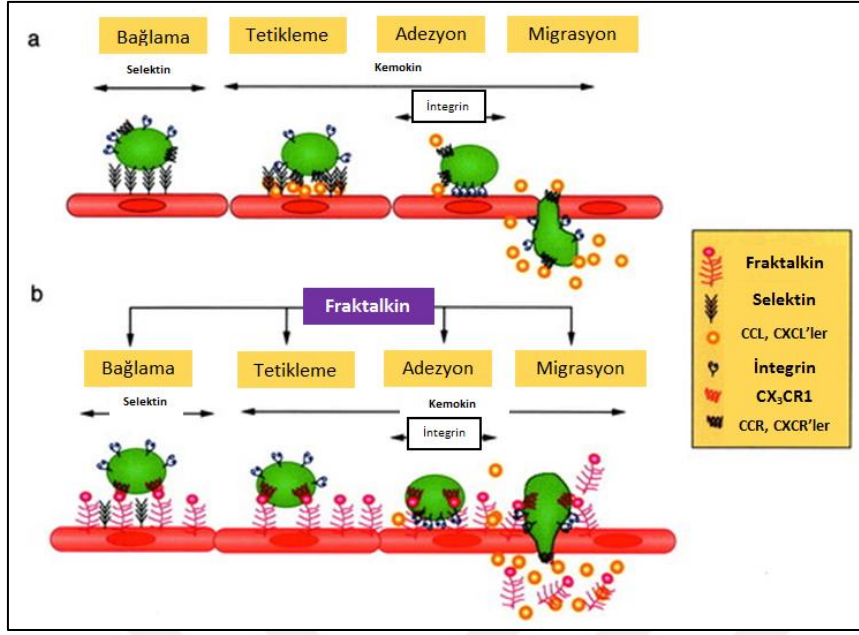
Fraktalkin, ekstraselüler N-terminal domain (1-76. rezidüler), müsin benzeri sap (77-317. rezidüler), transmembran α heliks (318-336. Rezidüler) ve kısa sitoplazmik kuyruk (337-373. Rezidüler) olmak üzere 373 aminoasitten oluşmaktadır ve diğer kemokinlerden farklı transmembran molekül olarak sentezlenir. TNF- α , interferon- γ (IFN- γ) ve interleukin-1 (IL-1) gibi enflamatuvar sitokinlerin endotelial hücreleri uyarmasıyla membrana bağlı fraktalkin,

integrin bağımsız olarak lökosit adezyonunu indükleyebilir [203]. Çözünür form, monositler, NK hücreler ve T hücreler için kemoatraktan aktiviteye sahiptir ve bu etkisi metalloproteinazlar ADAM 10 ve ADAM 17 tarafından membrandan kesilmesiyle ortaya çıkmaktadır [204].

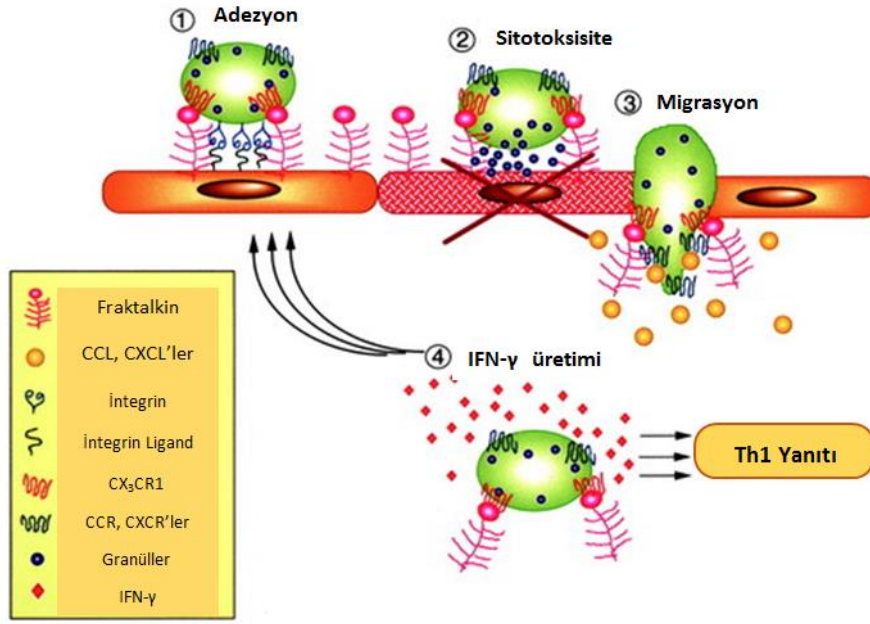
Fraktalkinin biyolojik etkileri, CX3CR1 (eski adıyla V28) reseptörü ile etkileşiminin bir sonucudur [193, 205, 206]. Yapısal olarak, CX3CR1 reseptörü, G protein-bağlantılı reseptörler veya yedi transmembran proteini olarak da bilinen metabotropik reseptörlerin sınıfına aittir [193]. Polipeptit zinciri, hücre zarının kalınlığı boyunca uzanan yedi adet heliksel yapıdan oluşur. Buna göre, reseptörün hücre dışı, transmembran ve hücre içi kısmı ayırt edilebilir. Polipeptit zincirinin dış halkaları fraktalkin ve CCL26 ligandlar için bağlanma bölgesidir [206, 207]. Sitoplazmada ve zincirin C-terminal ucundaki hücre içi halkalar, heterotrimerik protein G α 'nin bağlandığı bölgeyi oluşturur. CX3CR1 reseptörü ile ilgili araştırmalardaki temel bir keşif, CX3CL1'in otoregülatuar fonksiyon gördüğüdür ve bunun nükleer NF- κ B'yi etkinleştirmek için TNF tip 1 reseptörüyle etkileşime girdiğinin tespit edilmesidir. Bu kemokinin gözlenen biyolojik etkilerini yorumlar.



Şekil 2.12. (a) Reseptör proteinini oluşturan 7 transmembran α -sarmalını ve reseptörün heterotrimerik protein G' nin ayrı alt-birimlerini gösteren CX3CR1 reseptörünün yapısı (b) CX3CL1' in serbest formu CX3CR1 reseptörü ile etkileşime girebilir (c) Membran bağlı formuyla etkileşime giren reseptör



Şekil 2.13. Adezyon yolağında klasik ve fraktalkin aracılı yolların şematik modeli. Dolaşımdan periferik dokuya lökosit göçü aşamalı bir süreçtir. a, Klasik yol. İlk adım geçici, zayıf, selektin aracılı bağlamayı (tethering) içerir. Daha sonra, lökositler üzerindeki integrinler, glikozaminoglikanlarda ortaya çıkarılan kemokinler tarafından aktive edilir (triggering), bu da lökositler ve endotel hücreleri (EH) arasında sıkı bir yapışma (adezyon) ile sonuçlanır. Son olarak, lökositler bir kemokin gradyanına yanıt olarak endotel tabakasından göç eder (transmigrasyon). b, Fraktalkin aracılı yol. Fraktalkin EH' llerde membrana bağlı form olarak eksprese edilir ve lökositleri selektin ve integrinden bağımsız bir şekilde yakalar. Fraktalkin ve CX₃CR1 arasındaki etkileşim ayrıca integrin aviditesini artırabilir ve daha sıkı bir adezyon ile sonuçlanabilir. Lökositler daha sonra vasküler duvardan dokuya geçerek kemokin gradyanına kadar ekstravazasyon yaparlar. Fraktalkin, başlangıç tethering ve son transmigrasyon aşamaları boyunca hücre adezyonuna aracılık ederek dolaşımdaki lökositlerin ekstravazasyonunu kolaylaştırabilir.



Şekil 2.14. Fraktalkinin biyolojik fonksiyonları: 1. Fraktalkin ve integrin ligandlarının birlikte ekspresyonu yoluyla CX3CR1 ve integrinlerin birleşmesi sıkı bir adezyon ile sonuçlanır. 2. NK hücreleri, CD8⁺ T hücreleri ve $\gamma\delta$ T hücreleri dahil olmak üzere CX3CR1 eksprese eden sitotoksik efektör hücreler sitoplazmik granüller içerir. Bu hücreler membrana bağlı fraktalkin veya aktive edici reseptörler tarafından aktive edildiğinde, komşu EH' lere zarar verebilirler. 3. Membrana bağlı fraktalkin, diğer kemokinlerin CX3CR1 eksprese eden hücrelerin dokuya göçü üzerindeki etkisini artırır. 4. Fraktalkin tarafından aktive edilen, transmigre CX3CR1 eksprese eden hücreler, IFN- γ üreterek Th1 cevabına yol açar. IFN- γ aynı zamanda EH' lere fraktalkin ekspresyonunu arttırarak parakrin geri besleme döngü sistemine katılır.

CD4⁺ yardımcı hücreleri (Th) ve CD8⁺ sitotoksik T hücreleri (Tc), ürettikleri sitokinlere bağlı olarak iki ayrı gruba ayrılır. Th1 ve Tc1 hücreleri, hücre içi patojenlere karşı bağışıklık tepkilerine aracılık eden ve organa özgü otoimmün hastalıklar gibi patolojik süreçlerle ilişkili olan IFN- γ , TNF- α ve IL-2 salgılar. Th2 ve Tc2 hücreleri, hücre dışı patojenlere karşı bağışıklık tepkilerine aracılık eden ve alerjik bağışıklık tepkileri ile ilişkili olan IL-4, IL-5 ve IL-13 üretirler [194]. Son çalışmalar, farklı doku tropizmlerine ve fonksiyonlarına sahip çeşitli lenfosit alt kümelerinin spesifik kemokin reseptörlerini eksprese ettiğini göstermiştir. Örneğin, CCR5 ve CXCR3 tercihen Th1 hücreleriyle ilişkilendirilirken CCR3, CCR4 ve CCR8 esas olarak Th2 hücrelerinde eksprese edilir. CX3CR1 eksprese eden CD8⁺ ve CD4⁺ T hücreleri sırasıyla Tc1 ve Th1 ile kısmen örtüşmektedir. Fraticelli ve diğerleri tamamen polarize edilmiş Th1 hücrelerinin seçici olarak CX3CR1' i eksprese ettiğini ve fraktalkine göç ettiğini bildirmiştir [208].

NK hücreleri, CD8⁺ T hücreleri ve gammadelta ($\gamma\delta$) T hücreleri gibi çok çeşitli hücreleri içeren sitotoksik lenfositler, hücre içi patojenlere ve tümör hücrelerine karşı hem doğuştan hem de edinilmiş bağışıklıkta başlıca efektör hücrelerdir [209]. CX3CR1' in yüzey ekspresyonunun NK hücreleri, $\gamma\delta$ T hücreleri ve terminal olarak farklılaşmış CD8⁺ T hücreleri dahil olmak üzere, yaygın olarak hücre içi perforin ve granzim B içeren periferik kan sitotoksik efektör lenfositlerini tanımladığını ve çözünür fraktalkinin tercihen bu perforin ve granzim B-pozitif sitotoksik efektör lenfositlerin göçünü indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca, sitotoksik efektör lenfositlerin membrana bağlı fraktalkin ile etkileşimi, makrofaj enflamatuar protein-1 beta (macrophage inflammatory protein-1 β) / CC ligand 4 veya IL-8 / CXC ligand 8 gibi ikincil kemokinlere sonradan göçü teşvik etmiştir, fraktalkinin iltihaplı endotel yoluyla sitotoksik efektör lenfositlerin doku göçünü düzenlediği, sitotoksik efektör lenfositler için bir vasküler düzenleyici olarak rol oynadığı gösterilmiştir [210].

Romatoid artritli (RA) hastalarda periferik kanda ve sinoviyal sıvıdan (SF) alınan monositlerde fraktalkinin ekspresyonu, bu kemokinin, enflamatuar hastalıklarda bağışıklıkla ilgili önemli bir rolünü doğrulamaktadır. Fraktalkin ayrıca RA sinovyal dokuda makrofajlar, fibroblastlar, endotel ve dendritik hücrelerde eksprese edilir [17]. Son dönemlerde yapılan çalışmalarda CCL26' nın, CX3CR1' ye karşı agonist olduğu bulunmuş, atopik dermatit ve sedef hastalığı gibi allerjik hastalıklarda rol oynayan CX3CR1 için çift etkili bir rolü olduğu bulunmuştur [207]. Enflame dişeti dokusunda fraktalkin, esas olarak endotelial hücrelerde tespit edilmiş ve fraktalkin reseptörü-1, infiltre hücrelerde gösterilmiştir [211].

Fraktalkin benzersiz bir şekilde lökosit yapışması mekanizmasına aracılık eder. Kemokin bölgesi membrana bağlı musin benzeri sap üstünde sunulur; burada, proteoglikanlar ve diğer adezyon molekülleri ile olan ilişkiyi gereksiz hale getiren adezyon molekülü bulunur. Fraktalkin ve CX3CR1 arasındaki etkileşim, başlangıç tethering ve transmigrasyon basamaklarında lökositlerin ekstravazasyonunu daha da kolaylaştıran integrin afinitesini belirgin şekilde artırabilir [212]. Hücre içi adezyon molekülünün (ICAM) -1 ve vasküler yapışma molekülünün (VCAM) -1 ortak ekspresyonu ile birlikte enflame endotel üzerindeki fraktalkin ekspresyonu, CX3CR1' i eksprese eden hücrelerden kandan

yakalanarak dokuya migrasyonu arttırarak hücre adezyon işlevini büyük ölçüde geliştirir [194]. Çalışmalarda, enflamasyon bölgesindeki fraktalkin ekspresyonunun NK hücrelerini çekebileceği ve aktive edebileceği ve böylece komşu endotel hücrelerinin parçalanmasıyla sonuçlanabileceği bildirilmektedir [194, 213].

Endotel hücre membranlarında artmış fraktalkin, ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonu virüs / bakteri, iskemi veya sitokin indüksiyon (IL-1, TNF- α , IL-6) gibi belirli durumlardan kaynaklanmaktadır [214]. Adezyon molekülleri ve fraktalkin ekspresyonu sonucunda, NK hücrelerinin endotel hücreleri arasındaki transmigrasyonu ve adezyonu artarak enflamasyonla sonuçlanır.

Güçlü proinflatuvar etkilere sahip pleiotropik bir sitokin olan TNF- α 'nın fraktalkin ekspresyonunu önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir [204, 215]. İnsan umbilikal ven endotel hücrelerinde (HUVEC'ler) TNF- α uyarımı ile büyük oranda artmış fraktalkin CX3CL1 mRNA ekspresyonu gösterilmiştir. TNF- α kaynaklı fraktalkin ekspresyonunda elde edilen sinyal yollarının değerlendirilmesinde öncelikle enflamatar yanıtlarda rol oynayan yüksek oranda düzenlenmiş transkripsiyon faktörü NF- κ B' nin ekspresyonu vasıtasıyla aracılık edilmektedir [215, 216]. Bu görüş, sıçan aort endotel hücrelerinde TNF- α ile fraktalkin indüksiyonunun NF- κ B' nin blokajı ile bastırıldığı bir başka çalışma tarafından da desteklenmiştir [204].

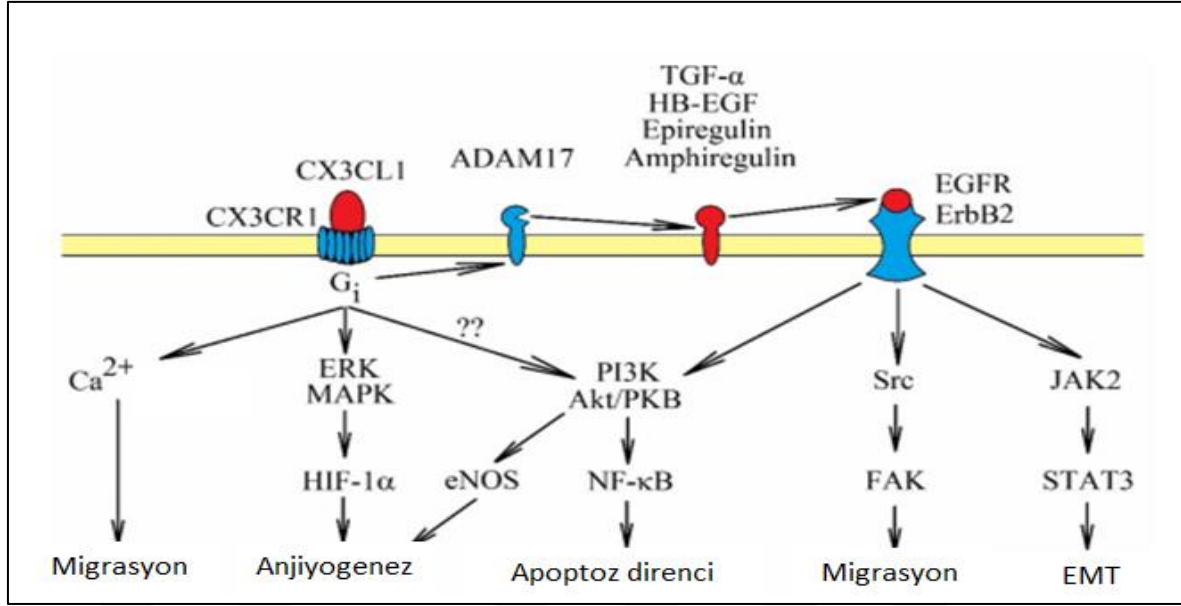
TNF- α ve IFN- γ , çeşitli sitokinlerin indüksiyonu için agonist olarak görev yaparken, TNF- α ve IFN- γ sinerjizması belirli sitokin tiplerinde süper indüksiyona neden olur [217]. Bir çalışma, HUVEC'lerin IFN- γ veya TNF- α kombinasyonu ile sinerjik olarak fraktalkin ekspresyonu tedavisinin uygulanmasını bildirmektedir [218]. TNF- α ve IFN- γ ile uyarma, aynı zamanda, astrositlerde fraktalkin ekspresyonunu 10 kattan fazla indüklediği bilinmektedir [219]. RA sinovyal fibroblastlarda TNF- α ve IFN- γ ile sinerjik indüksiyon, fraktalkin ekspresyonunu tek başına sitokinden daha fazla artırır [197].

IL-1 β 'nin bazı çalışmalarda fraktalkin ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir. Garcia ve diğerleri (2000) sıçan aort endotel hücrelerinde IL-1 β ile NF- κ B' ya bağlı fraktalkin indüksiyonu bildirmiştir [204].

Fraktalkinin, glomerüller, epitel ve endotel hücreler gibi birçok dokuda üretilip; kardiovasküler hastalıklar, ateroskleroz, renal hastalıklar (glomerulonefrit, renal tümörler, renal transplantasyon), kardiyak allograft rejeksiyon, psöriasis, liken planus, romatoid artrit, sistemik skleroz, primer bilier siroz, pulmoner arter hipertansiyonu, akciğer, kolon kanserleri, akut hepatit, alerjik astım, rinit, HIV ilişkili patolojiler gibi birçok inflamatuvar hastalığın patogeneğinde rol almaktadır. Enflamasyonu artırıcı ve hastalığı alevlendirici etkileri gösterilmiştir [17, 194, 198, 220-222].

Hosokawa ve diğerleri, periodontal dokularda fraktalkin ekspresyonu ve CX3CR1 ekspresyon eden hücrelerin infiltrasyonunu saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) analizi ve immünohistokimya analizlerini kullanmışlar ve araştırmacılar enzim bağlantılı immünosorbent testi (ELISA) kullanarak *Porphyromonas gingivalis* LPS' i de dahil olmak üzere patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP) ile uyarılmış endotel hücreleri tarafından fraktalkin üretimini inceleyerek , iltihaplı dişeti dokusuna infiltre olan lökositlerin, belirgin CX3CR1 seviyelerini ekspresyon ettiği gözlemlemiştir [211].

Periapikal lezyonların gelişiminde de fraktalkin ve reseptör CX3CR1' in ekspresyonunu ve bu maddelerin periapikal lezyonların patogeneindeki muhtemel rolü araştırılmıştır. Sıçanlarda yapılan bu çalışmada; fraktalkin ve CX3CR1' in periapikal lezyonların gelişimiyle ilişkili olduğu, kemokin ve reseptörünün periapikal enflamasyon sırasında kemik rezorpsiyonu da dahil olmak üzere doku tahribatının ilerlemesinde rol oynayabileceği bildirilmiştir [223].



Şekil 2.15. CX3CR1 sinyal iletimi. CX3CR1 reseptörü, yedi-transmembran alan G protein-bağlı reseptördür. Bu reseptörün aktivasyonu, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) ve fosfatidilinositol-4,5-bifosfat 3-kinaz (PI3K) →Akt/protein kinaz B (PKB) eksenine Ca²⁺ mobilizasyonu eşliğinde sinyal iletilmesine neden olur. Bu yollar kanser hücreleri göçüne ve apoptoz direncine neden olur. CX3CR1 aktivasyonu ayrıca Src →fokal yapışma kinazı (FAK) ve janus tirozin kinaz 2' yi (JAK2) aktive eder. →sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 3' ün (STAT3) aktivatörü, ancak muhtemelen sadece dolaylı olarak etkinleştiriliyorlar. İlk olarak, CX3CR1, epidermal büyüme faktörü reseptörünü (EGFR) / ErbB1 ve ErbB2 reseptör aktivatörlerini serbest bırakan tümör nekroz faktörü- α dönüştürücü enzim/a disintegrin ve metaloproteinaz 17' yi (TACE/ADAM17) aktive eder. Sadece EGFR /ErbB1 ve ErbB2 reseptörlerinin aktivasyonundan sonra, Src →FAK ve JAK2 →STAT3 yolları da aktive edilebilir.

2.8.3. TGF-β

Kolajen metabolizmasını kontrol eden en önemli sitokinlerden biri, oro-facial dokuların normal ve patolojik süreçlerinde yer alan Transforme Büyüme Faktörü-β (TGF-β) proteinidir [16]. TGF-β' nin beş ayrı izoformu tanımlanmıştır ve bunlardan üçü - TGF-β1, TGF-β2 ve TGF-β3 - tüm memeli türlerinde bulunmaktadır [224, 225]. TGF-β1 izoformu fibroblastlar için kemotaktiktir ve ekstraselüler matriks (ECM) birikimiyle ilişkili çeşitli fibrotik hastalıklarda rol oynayan bazı ECM bileşenlerini (tip I kollajen, tenasin, fibronektin) selektif olarak stimüle eder [226, 227]. TGF-β1 makrofajlar dahil birçok hücre tipi tarafından salgılanan bir sitokindir ve bağ dokularında kolajen metabolizmasında önemli bir

düzenleyici işleve sahiptir. TGF- β 1 erken geçişli insan gingival fibroblast hücre kültürlerinde kolajen ve lizil oksidaz biyosentezini yavaş yavaş uyarır [228].

Fibroz enflamasyon, doku remodelasyonu ve onarım süreçlerinin aynı anda meydana geldiği bir immün yanıt olarak tanımlanan kronik enflamasyondan kaynaklanır [229]. Dokulardaki hasar, enfeksiyonlar, otoimmün reaksiyonlar, toksinler, radyasyon ve mekanik yaralanma dahil olmak üzere çeşitli uyaranlardan kaynaklanabilir. Onarım işlemi tipik olarak iki farklı aşama içerir: hasar görmüş hücrelerin, kalıcı hasar kanıtı bırakmadan aynı türden hücrelerle değiştirildiği bir rejeneratif aşama; ve bağ dokularının normal parankimal dokunun yerini aldığı, fibroplazi veya fibroz olarak bilinen bir faz. Başlangıçta faydalı olmasına rağmen, onarım süreci uygun şekilde kontrol edilmediğinde patojenik hale gelir ve bu da normal dokunun kalıcı yara dokusu ile değiştirildiği ECM bileşenlerinin önemli ölçüde birikmesine neden olur [230].

İBDB' de fibrozu tetikleyen patojenik mekanizmalar kesin olarak anlaşılamamıştır ve literatür verileri geniş olmasına rağmen, bazı yönlerden çelişkilidir. Hücre kültürü çalışmaları sonucunda fenitoine bağlı dişeti büyümelerinden üretilen fibroblastların oluşturdukları ekstraselüler matriksin fibroblast yayılımını kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Fibroblast yayılımının dişeti büyümesi için ön koşul olduğu belirtilmiştir. Modeer ve diğerlerinin, bazı ilaçların gingival fibroblastların ECM üretimini ve/veya hücre proliferasyonunu inhibe edebileceğini gösteren in vitro çalışmaları mevcuttur [231]. Diğer taraftan, farklı çalışmalarda, ECM' de proteinlerin, özellikle de kolajen birikiminin, aşırı büyümüş dişeti bağ dokusunda turnovera bağlı bir dengesizliğe bağlı olarak ortaya çıkabileceği gösterilmiştir [232].

İlaçlar, genetik olarak gingival büyümeye neden olan ilaca duyarlı olduğu belirlenen, "yanıt verenler" olarak adlandırılan bir fibroblast alt-grubu üzerinde doğrudan bir etki yaratır; kalsiyum metabolizmasını etkiler ve Ca^{2+} akısının azalmasına neden olur, bu da hücresel folik asit alımında bir azalmaya neden olur ve dolayısıyla aktif kolajenaz formunun üretimini sınırlar [233].

Çok fonksiyonlu bir hücre matriks proteini olan bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF /CCN2), çeşitli fibrotik patolojilerde yüksek seviyelerde ortaya çıkmıştır ve TGF- β ' in diğer fonksiyonlarına müdahale etmeksizin TGF- β 1' in fibrotik etkilerinin olası bir alt mediatörü olarak işlev görmektedir [234]. Bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF), TGF- β ' nin ECM metabolizmasındaki etkilerine aracılık edebilir [235]. CTGF, çeşitli hücre tiplerinin proliferasyonunu uyarmak ve fibrozu teşvik etmek için önemli olan, korunmuş sistein bakımından zengin alanlar içeren ve çeşitli biyolojik aktiviteleri olan CCN faktör ailesinin bir üyesidir. Bu ailenin adı tanımlanan ilk üç aile üyesinden türetilmiştir: Cyr61, CTGF ve NOV [236]. CTGF, çok çeşitli fibrotik lezyonlarda yüksek oranda eksprese edilir ve CTGF düzeyleri dişeti dokularında fenitoin kaynaklı lezyonlarda en yüksek, nifedipin kaynaklı lezyonlarda orta ve siklosporin A kaynaklı büyümelerde hemen hemen hiç bulunmadığı gösterilmiştir [237]. Her ne kadar CTGF dokuda sürekli olarak mevcut olsa da, TGF- β sadece başlangıç dönemlerinde bulunur, bu da kaskad (yolak)etkisinin olabileceğini gösterir [238]. CTGF' nin fibrozu desteklediği mekanizma araştırılmış ve integrinlerle olası bir etkileşim önerilmiştir [6].

Son çalışmalar dişeti büyümesi ve epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) arasında olası bir ilişki olduğunu göstermektedir [117, 239]. EMT, epitel hücrelerinin fibroblast benzeri hücrelere transdiferansiye olduğu bir süreçtir. TGF- β 1, çeşitli dokularda güçlü bir EMT indükleyicisidir ve EMT geçiren hücrelerde CTGF ekspresyonu artmaktadır [117].

Hücre bölünmesi ve apoptozis, bir organizmada hücre popülasyonları arasındaki dengeyi korur. Apoptozis, belirgin morfolojik ve biyokimyasal özelliklerle tanımlanan yüksek oranda düzenlenmiş bir programlanmış hücre ölümü şeklindedir. Kanseri, AIDS, Alzheimer hastalığı, romatizmal artrit, periodontal hastalıklar ve diyabet anormal apoptozlara neden olur. Apoptoz, enflamasyon mediatörleriyle modüle edilebilir [240].

İyileşen dokularda, bir granülasyon dokusundan bir yeniden modelleme dokusuna geçiş, fibroblastların apoptozunu gerektirir. Yetersiz apoptozun olduğu yaralar, fibrotik dokuların oluşmasına neden olabilir. Bu nedenle, apoptozun modülasyonu, dişeti dokularında fibroz etiyojisine katkıda bulunabilir. Hücre proliferasyonu ve apoptozis arasındaki denge, dişeti büyümesinin farklı biçimlerinin karakteristik özelliği olabilir. Örneğin, fenitoin ile

indüklenen dişeti büyümesi ve kalıtsal diş eti fibromatozunun diğer dişeti büyümesi formlarından daha fibrotik olduğu görülmektedir [6, 8, 237]. Uzel ve diğerleri, Kantarcı ve diğerlerinin yaptıkları çalışma verileri, muhtemelen azalmış FOXO ve kaspaz-3 ekspresyonuna aracılık eden azalmış apoptozun, fibroblastlarda artan proliferatif aktivite ile birlikte, dişeti dokusunun fibrotik büyümesine katkıda bulunabileceğine dair kanıtlar ortaya koymaktadır [8, 237]. Fenitoin kaynaklı fibroz ve dişeti fibromatozunun, TGF- β 1 aktivitesinin artmasının bir göstergesi olan yüksek seviyelerde CTGF içermesi ilginçtir [8, 237]. Çünkü TGF- β 1, edinilmiş bağışıklık tepkisini bastırır, dişeti fibromatozunda ve fenitoin kaynaklı dişeti büyümesinde bir TGF- β 1 / CTGF yolağının uyarılmasının, gingival enflamasyonu ve fibroblast apoptozunu azaltabileceği ve böylece dişeti büyümesine katkıda bulunabileceği olası görünmektedir [240].

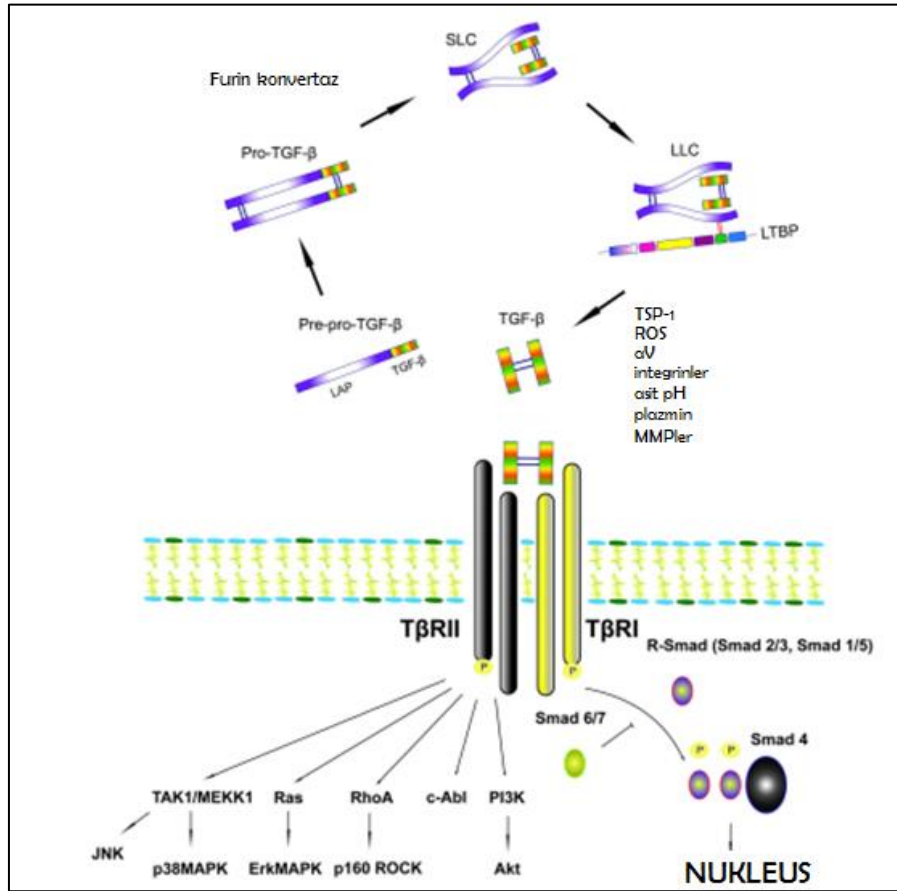
Fibroblast normal bağ dokusu içerisinde en fazla gözlenen hücre tipidir. Bu hücreler sağlıklı ve hastalıkta ekstraselüler matriksin sentezinde ve remodelasyonunda önemli role sahiptir. Miyofibroblastlar, fibroblastlardan farklılaşarak oluşan ve düz kas hücrelerinden açığa çıkan α -aktin izoformu içeren stress fibrilleri ile karakterize fibroblast subpopülasyonu hücrelerdir [241, 242].

Miyofibroblastlar fibroblast ve düz kas hücrelerinin karekterine sahip hücrelerdir. Bu hücreler sitokin, kemokin, prostoglandin, büyüme faktörü ve matriks içeriğini sentezleme özellikleriyle enflamasyon, büyüme, tamir ve neoplazilerde kritik role sahiptir [243]. Yapılan çalışmalarda pek çok ekstraselüler matriks içeriğinin ve sitokinin, fibroblastik hücreler içerisindeki α - düz kas aktinin açığa çıkmasını ayarlama yeteneğine sahip olduğu ve α -düz kas aktin açığa çıkaran miyofibroblastların fibrotik olaylardaki kolajen sentezinden sorumlu olduğu gösterilmiştir [244]. Fibrojenik sitokin olan TGF- β 1 ve PDGF' nin iyileşmekte olan yarada ve fibroblastlarda α -düz kas aktin ekspresyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Bu büyüme faktörleri sitokinden etkilenen makrofajların yara bölgesine göçü ile iyileşmesinin fibrojenik oluşumuna yardımcı olurlar. Ayrıca TGF- β 1 sentezi ekstraselüler matriks sentezi ve hücre-ekstraselüler matriks ilişkisinin düzenlenmesinde de önemli bir role sahiptir [244].

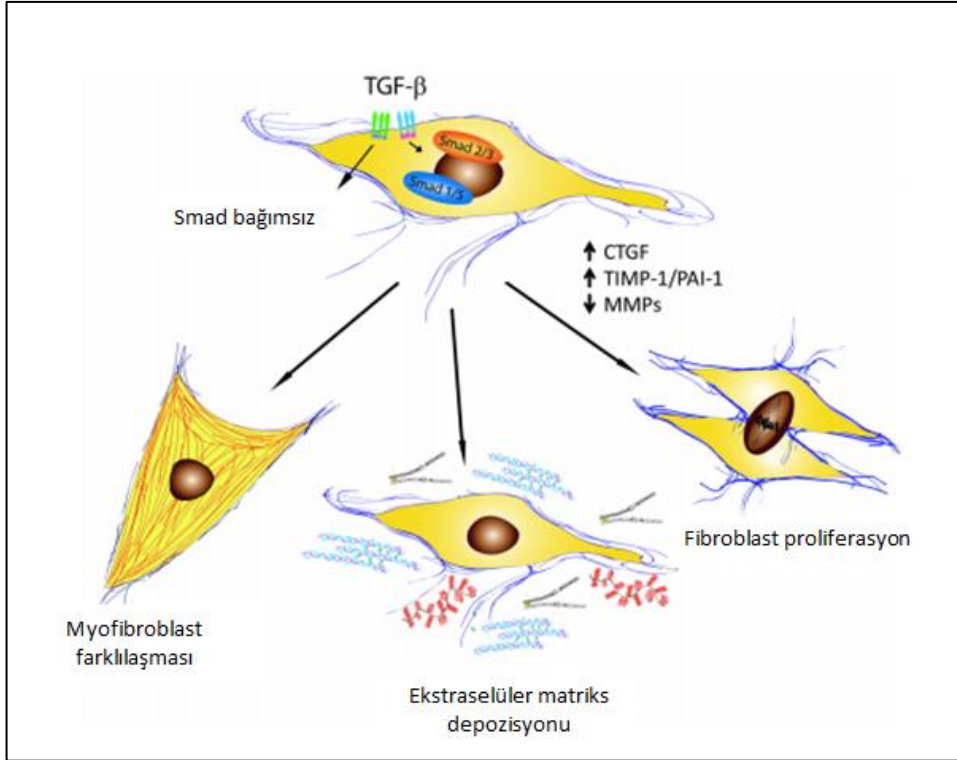
Yamasaki ve diğerleri (1987) yaptıkları bir çalışmada myofibroblastların siklosporin A kullanımına bağlı olarak gelişen dişeti büyümesi kesitlerinde varlığını ilk defa

göstermişlerdir. Dişeti fibroblastlarındaki değişimlerin plak tarafından indüklenen enflamasyona karşı, ilaç tarafından indüklenen bir tepki ya da bunun tam tersi olarak yorumlanacağı sonucuna varmışlardır [245].

Zhang ve diğerleri çalışmalarında TGF- β 'nin myofibroblastların interlekin-1 β tarafından indüklenen apoptozisini azaltarak bu hücrelerin ortamdaki varlığının devamlılığını sağladığını göstermişlerdir [246].



Şekil 2.16. TGF- β Sinyal İletimi TGF- β 'nin etkileri birçok moleküller aracılığı ile yürütülür. Bu moleküller; MAPKs, JNK, p38, p13k, Kinazlar, PP2A fosfatazlar, Rho ailesi ve Smad ailesidir. Smad' lar haricinde moleküler mekanizmalar bilinmemektedir. TGF- β 'nin aktivasyonu, TGF- β dimerinin LAP ile inaktif bir gizli kompleksten serbest bırakılmasını gerektirir. Smad bağımlı ve Smad' den bağımsız yollar aracılığıyla TGF- β sinyalleri. Kanonik ALK5/Smad3 yolağının aktivasyonu, fibrozun patogeneğinde merkezi bir rol oynar. Smad' den bağımsız yollar, Smad sinyallemesini düzenleyebilir veya doğrudan fibrojenik eylemler uygulayabilir [247].



Şekil 2.17. TGF-β' nin fibroblast fenotipi ve işlevi üzerindeki etkileri.

2.9. Dişeti Büyümlerinin Teşhisinde Dişeti Oluğu Sıvısı

DOS kan plazmasından köken alır ve dişeti oluğunda farklı kompozisyonlarda bulunur [248] [249]. Dişeti oluğunun ekolojisini belirleme özelliğine sahip eksuda özelliklerini taşıyan bir biyolojik sıvıdır [250].

Yüksek moleküllu mikrobiyal antijenler subepitelyal bağ dokusuna ulaştığında, bunlara karşı bir doku reaksiyonu gelişmektedir. "Subsulkuler Pleksus " olarak isimlendirilen damar ağı bu enflamasyon karşısında değişikliğe uğrar ve endotel hücrelerinin ayrılması sonucu dişeti oluğu sıvısı adı verilen bir sıvı akışına neden olur [250].

DOS içeriğindeki hücresel bileşenler (epitel, bakteri, lökositler, eritrositler, lökositler, virüsler ve yan ürünleri), elektrolitler, bakteriyel-metabolik ürünler, sitokinler, konak ve bakteri kaynaklı enzim ve enzim ürünleri-inhibitörleri (asit fosfataz, alkalen fosfataz, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrogenaz, aril sülfataz vb.) ve immünoglobulinler sıvının karakteristik özelliklerini oluşturular ve bu yapı sıvının periodontal hastalık açısından

ne denli önemli olduğunu ortaya koymaktadır [251]. Ayrıca sistemik olarak alınan ilaçların da DOS' a geçtiği ve sıvıyı etkilediği belirlenmiştir [252].

İlk kez 1960 yılında DOS analizinin periodontal dokuların enflamatuvar durumunu değerlendirmek için bir yöntem olabileceği görülmüştür. DOS miktarının gingival enflamasyonun şiddetiyle doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir [253].

Sağlıklı dişeti varlığında DOS çok az miktardadır ve DOS' un miktarı iltihabi olaylar ile artmaktadır [254].

Yapılan çalışmalarda bu artışın sert gıdalar çiğnendiğinde, diş fırçalama, ovulasyon ve oral kontraseptiflerin kullanılmasında da meydana geldiği belirlenmiştir [255].

DOS' u etkileme potansiyeline sahip birçok faktör vardır. Seks hormonları, sirkadyen ritim, diyabet gibi sistemik hastalıklar hasta ile ilişkili faktörleri oluşturken, DOS örneği üzerine etkisi bulunan, DOS elde etme ve değerlendirme yöntemleri ile bunlara etki eden çevresel (ısı-nem, buharlaşma vb.) faktörler de DOS' un yapı ve miktarını etkiler [256].

DOS' da tespit edilen enflamatuvar mediatörlerin bazıları: IL-1- α , IL1- β , IL-1ra, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , interferon α' dır [48].

DOS' un görevleri:

İçerisinde bulunan plazma proteinleri sayesinde epitelyal ataşmanın dişe adezyonunu kuvvetlendirir, dişeti oluşunu yıkayarak temizler, antibakteriyel aktiviteye sahiptir, dişetinin korunmasında antikör faaliyeti gösterir [257, 258].

DOS' da; Kompleman ve Ig' lerin varlığı ve aktivasyonu ile ilgili mekanizmalar, kolajenolitik enzimler ve inhibitörlerin saptanması, lizozomal enzimlerin incelenmesi, aspartat aminotransferaz ve laktat dehidrojenaz gibi hücre lizisi ve doku yıkımının belirleyicisi olan enzimlerin tayini, lizozim, peroksidaz, laktoferrin gibi antibakteriyel faktörlerin incelenmesi, PGE2, interlökin ve TNF gibi sitokinlerin varlığı ve düzeylerinin belirlenmesi, hidrokspirolin gibi son yıkım ürünlerinin incelenmesi gibi birçok çalışma yapılabilir [259].

Nifedipin, amlodipin, fenitoin, tetrasiklin ve siprofloksasin gibi bazı ilaçların DOS' da tespit edilebileceği gösterilmiştir [260-262].

DOS toplanmasında kullanılan yöntemler, dişeti yıkaması, mikropipetler ya da emici kağıt şeritlerin kullanılması olarak sayılabilir [251].

DOS örnekleri mikro pipet (kapiller tüp) kullanılarak gingival yıkama ile veya son dönemlerde sık kullanım alanı bulan ticari olarak üretilmiş boyut ve emiciliği standart olan kağıt şeritler ile elde edilebilmektedir [251, 252].

2.10. Polimeraz zincir reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu “Polimerase Chain Reaction” (PCR) bir DNA molekülünün seçilen bir bölgesinin seçici çoğaltımıyla sonuçlanır. Yöntemin temeli çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü baz dizilerine tamamlayıcı olan 18-20 baz uzunluğunda bir çift sentetik oligonükleotid primer kullanılması ve bu iki primer ile sınırlandırılan bölgenin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır [263]. Polimeraz zincir reaksiyonu ile bir hedef DNA parçasından milyonlarca çoğaltmak mümkündür. Bölgenin sınırları bilindiği sürece herhangi bir DNA molekülünün herhangi bir bölgesi seçilebilir. Bir PCR döngüsü sırasıyla:

1. Çift sarmallı DNA zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılması “denaturation” (94°C-98°C)
2. Sentetik oligonükleotitlerin (primer) hedef DNA’ ya bağlanması “annealing” (37°C-65°C)
3. Taq DNA polimeraz enzimi ile primerlerin bağlandığı yerlerden başlayarak DNA’ nın kalan kısmının sentezlenmesi, zincir uzaması “extension” (72°C).

Reverse-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) ve Kantitatif-Gerçek-Zamanlı RT-PCR (Quantitative Real-time RT-PCR) gibi yöntemleri bulunmaktadır.

Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction) (qPCR): Nükleik asit diziliminin sayısal olarak analizi bir çok biyolojik araştırmanın temelini oluşturmaktadır. Bu araştırmalarda çeşitli uyarılara karşı verilen biyolojik cevapların izlenmesinde gen ekspresyonunun ölçümünden yararlanılır [264]. PCR metodu düşük seviyelerde bulunan aktif biyolojik molekülleri tanımlayabilmektedir [265]. Oldukça düşük miktardaki örneklerden elde edilen DNA' nın kopyasını, sayısal verilere çevirebilmekte ve mRNA düzeylerini sayısal olarak belirleyebilmektedir.

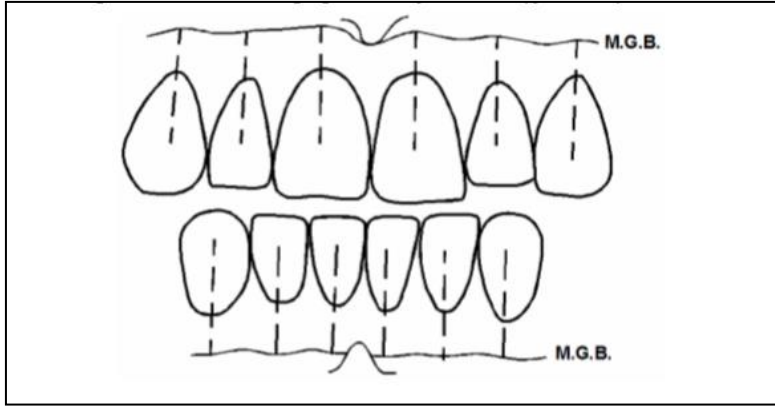
qPCR ile gen ekspresyonu yapılmadan önce, örneklerden izole edilen mRNA reverse-transkripsiyonla cDNA' ya kopyalanır. Reaksiyon sırasında ürünlerin floresan prob veya boyaya bağlanması sonucu ışımaya meydana gelir ve oluşan ışımaya sayesinde çoğalım monitörize edilir [266].

2.11. Dişeti Büyüme İndeksleri

Günümüze kadar dişeti büyüme derecelerinin değerlendirilmesi amacıyla bir çok indeks sistemi kullanılmıştır.

Klinik çalışmalarda en sık kullanılan indekslerden biri olan Seymour indeksi, üç boyutlu alçıdan yapılan bir çalışmayı temel alan dolaylı bir yöntem kullanır ve üst ve alt ön segmentlerin (sağ kanadın orta noktasından sol kanadın orta noktasına kadar) sadece beş gingival birimini değerlendirir. Her bir dişeti ünitesine ait indeks skorları, dişeti kalınlaşmasının (0-2) ve dişeti enflamasyonunun (0-3) derecelendirilmesinin sonucudur [267]. Bu indeks sistemi, dişetin horizontal yönde 'gingival kalınlaşma', vertikal yönde de 'gingival yükselme' olarak iki farklı şekilde değerlendirilmesine dayanmaktadır.

Bu indekse göre maksiler ve mandibuler anterior dişler 5 labial, 5 palatinal, 5 bukkal ve 5 lingual olmak üzere 20 gingival üniteye bölünür.



Şekil 2.18. Alt ve üst ön dişlerin gingival ünitelere bölünmesi

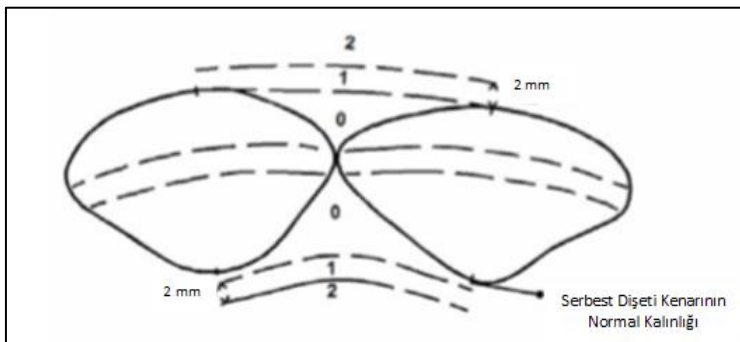
Horizontal ölçümler

İnterdental papilde bukkolingual yönde yapılır. Hem labial/ bukkal hem palatinal/ lingual yüzeylerde papiller için birer skor elde edilir. İnterdental kontak noktasında, mine yüzeyinden papilin dış yüzeyine kadar olan mesafe ölçülür. Gingival kalınlaşma derecesi aşağıdaki şekilde skorlanır.

0: Normal dişeti

1: Normal dişetinden 2 mm' ye varan kalınlaşma

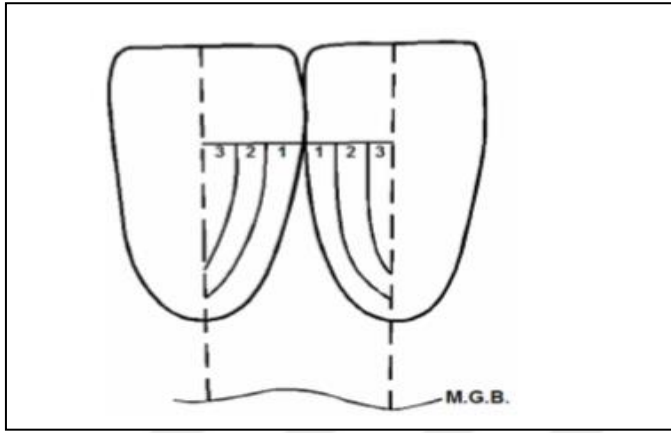
2: 2 mm' yi aşan kalınlaşma



Şekil 2.19. Bir gingival ünite de labio lingual yönde gingival kalınlaşmanın ölçüm kriterleri

Vertikal ölçümler

Gingival dokuların komşu diş krunları üzerinde yükselme derecesi saptanarak hesaplanır. İnterdental alanda dişeti dokusunun komşu diş krunlarını kaplama miktarı belirlenerek ölçülür. Hem labial/bukkal hem palatinal/lingual yüzeylerde papiller için birer skor elde edilir. Gingival yükselme derecesi şekil 21' de gösterilen kriterlere uyularak değerlendirilir. Aynı ünite de komşu diş yüzeyinde gingival yükselme açısından farklılık varsa yüksek olan skor kabul edilir.



Şekil 2.20. Bir gingival ünite de komşu diş yüzeylerinde gingival yükselme kriterleri

Dişin orta hattının sağından ve solundan 3 eşit parçaya bölünür.

0: normal dişeti

1: papile komşu dişlerin orta hattına kadar olan mesafenin $1/3$ ' ü kadar olan büyüme

2: papile komşu dişlerin orta hattına kadar olan mesafenin $2/3$ ' ü kadar olan büyüme

3: papile komşu dişlerin orta hattına kadar olan mesafeyi kaplayan büyüme

Dikey ve yatay ölçümlerden elde edilen değerler birbiriyle toplanarak her bir papil için büyüme miktarı hesaplanır. Bu değerlendirmede, maksiler ve mandibular 10 labial ve 10 lingual olmak üzere toplam 20 gingival ünite kullanılır. Her bir ünite en fazla 5 ($3+2=5$) değerini alabilir. Böylece bir hastada ölçülebilecek en yüksek değer 100 olarak saptanır ($20 \times 5 = 100$) ve büyüme değeri bu ölçüme bağlı olarak yüzde biçiminde (DBY) de ifade edilir.

Bu hesaplamaya göre %30 ve üzerindeki değerler dişeti büyümesi olan hasta, %30' un altındaki değerler ise dişeti büyümesi olmayan hasta olarak yorumlanır [268].

Çalışmalarda sık kullanılan bir diğer indeks Miller-Damm İndeksi' dir (MD). Angelepoulos ve Goaz tarafından tanımlanan, daha sonra Miller ve Damm' a göre modifiye edilen MD indeksinde [269, 270]; vertikal yönde her dişin mine sement bileşiminden serbest dişeti marjinine kadar ölçümler yapılarak, her dişin etrafında altı noktadan puanlanma yapılır:

0: normal dişeti;

1: 2mm' den az minimal dişeti büyümesi, anatomik kuronun servikal üçlüsü kadar veya daha az bir büyüme;

2: 2-4mm, orta dereceli dişeti büyümesi, orta üçlüye kadar uzanan büyüme;

3: 4mm' den fazla, şiddetli büyüme, kuronun üçte ikisinden fazla olan büyümedir.

Seymour ve diğerleri [267] tarafından tanımlanan ve Miranda-Brunet tarafından modifiye edilen Miranda-Brunet İndeksinde ise; (MB endeksi) [271] yatay olarak tüm interdental papillada bukkal-lingual yönde dişeti büyümesi ölçümleri yapılır. MB endeksi nodullar papilla genişlemesini değerlendirir ve Seymour indeksin bir modifikasyonudur. Papilla boyutundaki artış, interdental temas noktasında mine yüzeyinden, dış papiller yüzeye doğru ölçülmektedir [267] [271]. Aşağıdaki kriterlere göre, biri bukkal papilla ve diğeri lingual / palatal papilla için iki puan elde edilir:

0: 1 mm' den küçük papiller kalınlık;

1: 1 ila 2 mm arasında papiller kalınlık;

2: 2 mm' den büyük papiller kalınlık.

Her iki indeks de tüm ağız, anterior ve posterior bölgeler, bukkal ve lingual/palatal yüzeyler için ortalama bir değer hesaplanır.

MD ve MB indekslerinden birinde veya her ikisinde sıfırdan farklı dereceler kaydedildiğinde dişeti büyümesinin mevcut olduğu kabul edilir.

MD ve MB indeksi aşağıdaki avantajları sunmaktadır [271]:

- 1- Dismorfizmin ilk olarak kendini ifade ettiğı bölge olan interdental papilla bölgesinde dişeti büyümesinin (MB indeksi) doğrudan klinik kaydına izin verir.
- 2- Tüm dişlerde veya herhangi bir alanda dişeti büyümesinin 2 bileşenini kaydeder, yatay (MB indeksi) ve dikey (MD indeksi) dişeti büyüme derecesini ayırt eder.

MB indeksinin avantajı MD indeksine göre büyümenin daha erken aşamalarında dişeti büyümesini tespit etmesidir.





3. GEREÇ VE YÖNTEM

“Dişeti Büyümelerinde Etkili Olan TNF- α , Fraktalkin ve TGF- β Kemokin Seviyelerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez konusu Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kurulunun 05.12.2018 tarih ve 45 nolu oturumunda tez konusu olarak kabul edilmiştir. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurul Başkanlığının 18/04/2019 tarih ve GÜDHKAEK.19.08/2 karar numarası ile onaylanmıştır (EK-1). Bu tez konusu Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri 03/2019.08 proje kodu ile araştırma fonu tarafından desteklenmiştir.

3.1. Hasta Seçimi

Araştırmaya Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Kliniğine başvuran dişeti büyümesi tespit edilen yaşları 18-70 arası değişen (ort 38,8) 45 yetişkin birey dahil edildi.

3.1.1. Çalışmaya aşağıdaki tanı kriterlerine sahip bireyler dahil edildi;

- 18 yaşından büyük
- Sigara içmeyen
- Maksiller/mandibular anterior dişler bölgesinde dişeti büyüme indeksine göre 2. ve 3. derece dişeti büyümesi bulunan
- Ağızda mevcut dişler çevresinde radyografik olarak alveoler kemik kaybı gözlenmeyen
- Yara yeri iyileşmesini etkileyen herhangi bir sistemik rahatsızlığı olmayan (Diabetüs mellitus ..vs)
- İlaça bağlı büyüme grubu; en az 6 ay ve günlük 5 mg dozunda amlodipin içeren kalsiyum kanal blokeri kullanan
- Kontrol grubu; sistemik olarak sağlıklı, dişeti büyümesi olmayan

3.1.2. Aşağıdaki kriterlere sahip bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir;

- Son 6 ay içinde periodontal tedavi ve/veya cerrahi tedavi görmüş
- Son 3 ay içinde lokal veya sistemik antibiyotik kullanmış
- Son 3 ay içinde antienflamatuar ilaç kullanmış
- Hamile veya laktasyon döneminde olan
- Sigara kullanan
- Büyüme bölgelerinde herhangi bir restoratif yapı, çürük ya da ortodontik braketi olan

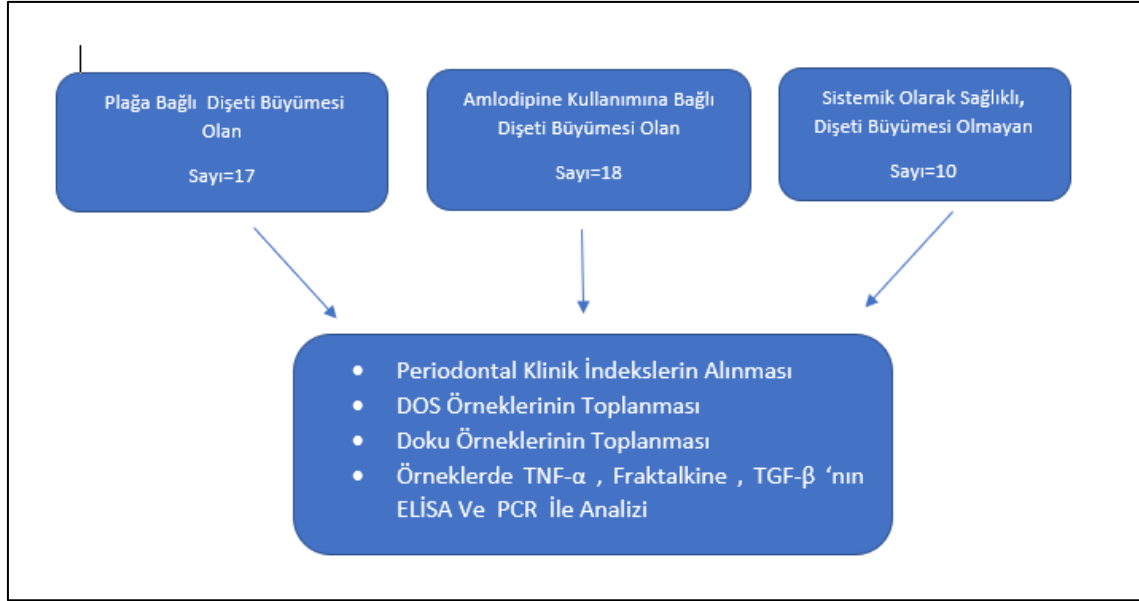
3.2. Çalışma grupları

Çalışmada yer alan bireyler 3 gruba ayrıldı; Plağa bağlı dişeti büyümesi olan 17 birey (P grubu), ilaç (Amlodipine) kullanımına bağlı dişeti büyümesi olan 18 birey (İ grubu), sistemik olarak sağlıklı, dişeti büyümesi olmayan, estetik kuron boyu uzatma tanısı konulan ve dahil edilme kriterlerini karşılayan 10 birey Kontrol Grubu; (K grubu) olup toplam 45 birey çalışmaya dahil edildi.

Estetik kuron boyu uzatma işlemleri; Restoratif amaçla krunu açığa çıkarmak, kesicilerin dişeti kenarında bilateral simetri sağlamak, gummy smile (yüksek gülme hattı) varlığında estetiği sağlamak, klinik kuron boyu kısa dişlere uygulanacak restorasyonların tutuculuğunu arttırmak ve periodontal dokularla uyumlu ilişki sağlamak amacıyla yapılmaktadır.

3.3. Çalışma Planı

Çalışmaya dahil edilen hastalara çalışma öncesinde araştırmanın amacı ve içeriği anlatıldı ve gönüllü olarak çalışmaya katıldıklarına dair bilgilendirilmiş onay formu imzalatıldı. (EK-2) Oluşturulan çalışma planı Şekil 3.1' de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Çalışma şeması

Klinik muayene öncesi alınan anamnezde hastaların demografik bilgileri (yaş, cinsiyet vs.), diş fırçalama ve diş ipi/arayüz fırçası kullanımı gibi oral hijyen alışkanlıkları, sigara kullanıp kullanmadığı, oral kontraseptif kullanımı, hormon kullanımı, sistemik hastalığı olup olmadığı, varsa sistemik hastalığına bağlı herhangi bir ilaç kullanıp kullanmadığı, kullanıyor ise ilaç kullanım süresi ve dozları gibi bilgileri belirlendi ve kaydedildi (EK-3).

Araştırma kapsamında hastaların ilk muayene seansında; periodontal sağlık durumunu belirlemek amacıyla aşağıdaki periodontal klinik ölçümler yapıldı ve kaydedildi (EK-4):

- Plak indeksi (Pİ)(Silness ve Loe, 1964) [272]
- Gingival indeks (Gİ)(Loe ve Silness, 1963) [273]
- Sondlama cep derinliği (CD)
- Sondlamada kanama indeksi (SK) (Ainoma ve Bay, 1975) [274]
- Klinik ataşman seviyesi (KAS)
- Dişeti büyüme indeksi (DBİ) (Angelepoulos ve Goaz, Miller ve Damm) [269, 270]

3.4. Periodontal Değerlendirme (Klinik İndeksler ve Ölçümler)

Çalışmada yer alan bireylerin 3. büyükazı dişler dışındaki tüm dişlerinin 4 yüzeyinden (mesial, bukkal/labial, distal, lingual/palatinal) Williams periodontal sondu (Nordent

Manufacturing Inc, Elk Grove Vilage, IL, ABD) kullanılarak plak indeksi (Pi), gingival indeks (Gi), sondlama cep derinliği (CD), sondlamada kanama indeksi (SK) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) ve dişeti büyüme indeksi (DBİ) kaydedildi. Tüm ağız ve örneklem bölgesi ortalama değerler elde edildi.

3.4.1. Plak indeksi

Serbest dişetinin marjini boyunca yer alan plağın miktarının ölçülmesi yoluyla bireylerin oral hijyen durumunu tespit etmek amacıyla kullanılan bu indekste aşağıdaki kriterlere göre skorlamalar yapıldı.

Silness ve L e' nin plak indeks skorları

0 Dişetine komşu bölgede plak gözlenmemektedir.

1 Serbest dişeti kenarında ve komşu bölgede biyofilm şeklinde plak varlığı bulunmaktadır.

2 Dişeti cebinde, kenarında ve/veya komşu diş yüzeyinde çıplak gözle de görülebilen orta derecede eklenti bulunmaktadır.

3 Dişeti cebinde, kenarında ve/veya komşu diş yüzeyinde bol miktarda yumuşak eklenti bulunmaktadır.

Plak indeksi dişlerin tüm yüzeylerinden (mezial, distal, vestibul, lingual/palatinal) elde edildi ve tüm yüzeylerin Pİ toplamı ölçüm yapılan diş sayısına bölünerek her hasta için ortalama bir Pİ skoru belirlendi.

3.4.2. Gingival indeks

Tüm dişlerin dört yüzeyinden (mezial, distal, vestibul, lingual/palatinal) dişeti enflamasyon seviyesi belirlendi ve tüm yüzeylerin Gi toplamı ölçüm yapılan diş sayısına bölündü ve her hastaya ait ortalama Gi skoru hesaplandı. Bireylerin serbest dişeti marjindeki enflamasyon düzeylerinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan bu indekste aşağıdaki kriterlere göre skortama yapıldı.

Löe ve Silness' in gingival indeks skorları

0 Dişeti sağlıklı, enflamasyon gözlenmemektedir.

1 Dişetinde hafif enflamasyon, renk değişikliği ve hafif ödem vardır; sondla temas sonrası kanama gözlenmemektedir.

2 Dişetinde orta derecede enflamasyon, hiperemi ve ödem vardır; sondla temas sonrası kanama gözlenir.

3 Dişetinde ileri derecede enflamasyon, hiperemi ve ödem vardır; spontan kanama eğilimi bulunmaktadır.

3.4.3. Sondlama cep derinliği

Periodontal sond dişin uzun aksına paralel tutulup, en fazla 20-25 g (0.20–0.25 N) kuvvet olacak şekilde oluk-cep içerisine yerleştirilerek; dişeti kenarından dişeti oluğu-cebi tabanına kadar olan mesafenin mm olarak ölçümü yapıldı.

Ölçüm yapılan tüm yüzeylerin cep derinlikleri toplamı, ölçüm yapılan diş sayısına bölünerek o hasta için ortalama cep derinliği bulundu.

3.4.4. Sondlamada kanama indeksi

Periodontal cebin sondlanması takiben 10-15 saniye içinde dişeti cebi kenarında oluşan kanamaya göre var ya da yok olarak kaydedildi.

Tüm SK (+) olan yüzeylerin toplamı 100 ile çarpılarak, ölçüm yapılan diş sayısına bölünerek , her hasta için ortalama SK % olarak hesaplandı.

3.4.5. Klinik ataşman seviyesi

KAS mine sement bileşiminden (MSB) dişeti oluğu tabanına kadar olan mesafedir. Klinik olarak, her bir dişte MSB' den dişeti kenarına olan mesafe mm olarak ölçüldü. Dişeti kenarının konumu MSB' nin apikalinde olduğunda pozitif sayı ve MSB' nin kuralinde olduğunda ise negatif sayı olarak kaydedildi. KAS, CD ile dişeti kenarı-MSB arasındaki

mesafenin toplamı olarak hesaplandı. Ölçüm yapılan dişlerin KAS değerleri toplamı, ölçüm yapılan diş sayısına bölünerek o hasta için ortalama KAS değeri bulundu. Çalışmamıza klinik ataşman kaybı olmayan gingivitisli hastalar dahil edildiği için KAS değeri 0 olarak hesaplandı.

3.4.6. Dişeti büyüme indeksi

Çalışmamızda dişeti büyümesi derecesi Angelepoulos ve Goaz tarafından tanımlanan, daha sonra Miller ve Damm' a göre modifiye edilen indeks (MD) kullanılarak incelendi; [269, 270] ; Her dişin mine sement bileşiminden serbest dişeti marjinine kadar Williams periodontal sondu ile ölçümler yapılarak, her dişin altı noktasından puanlanma yapıldı.

0: normal dişeti;

1: 2mm' den az minimal dişeti büyümesi, anatomik kuronun servikal üçlüsü kadar veya daha az bir büyüme;

2: 2-4mm, orta dereceli dişeti büyümesi, orta üçlüye kadar uzanan büyüme;

3: 4mm' den fazla, şiddetli büyüme, kuronun üçte ikisinden fazla olan büyümedir.

Ölçüm yapılan yüzeylerin DBİ toplamı, ölçüm yapılan diş sayısına bölünerek her hasta için ortalama DBİ hesaplandı.

Hastalar ilk seansta periodontal klinik ölçümler yapıldıktan sonra, oral hijyen konusunda bilgilendirildi. Roll tekniği ile fırçalama, diş ipi ve/veya arayüz fırçası kullanımı gösterildi. Günde 2 kez oral hijyen işlemlerini yerine getirmeleri istendi. Plak skoru < %25 olan bireyler örnekleme yapılmak amacıyla tekrar çağırıldı .

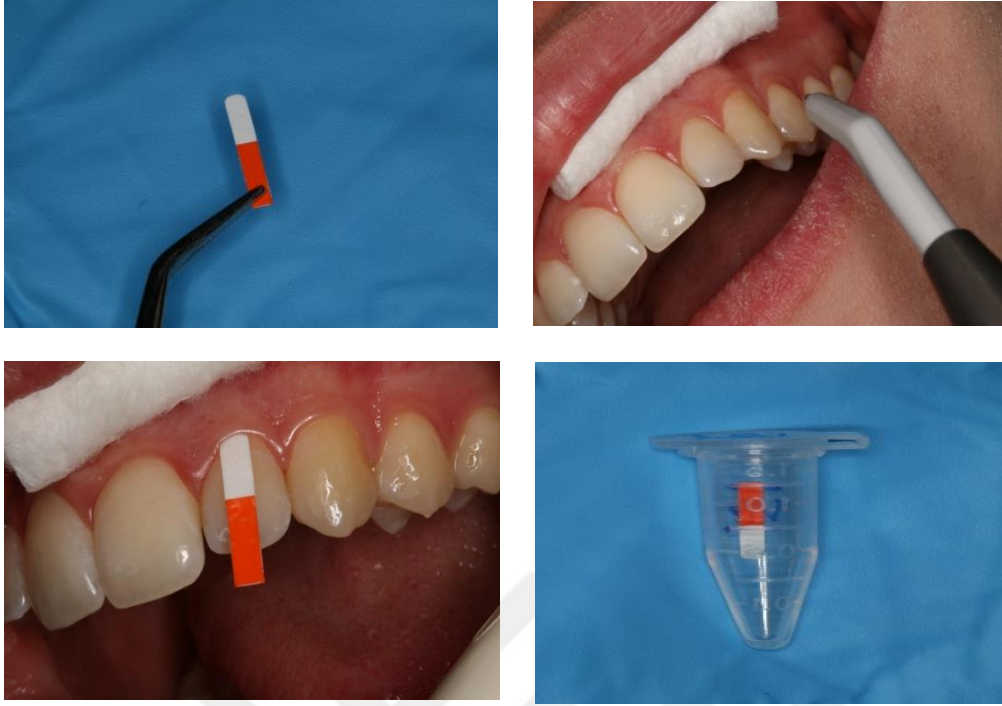
Çalışmada yer alan hastaların DOS örnekleri sondlamaya bağlı olarak meydana gelebilecek DOS kompozisyonu değişikliklerini engellemek amacıyla klinik ölçümleri yapıldıktan 1 hafta sonra alındı. Dişeti büyüme indeksine göre 2. ve 3. derece dişeti büyümesi görülen ilgili dişlerin DOS örnekleri toplandı.

3.5. Örneklerin Toplanması

3.5.1. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Toplanması

DOS örneklerinin toplanması için için sabah saatleri tercih edildi. Maksiller/mandibular anterior dişler bölgesinde dişeti büyüme indeksine göre 2. ve 3. derece dişeti büyümesi bulunan en az iki dişten örnek alındı. Örnek alınacak bölgeler tükürük kontaminasyonundan kaçınmak amacıyla işlem öncesi steril tamponlarla tükürükten izole edildi ve supragingival plak bölgeden uzaklaştırıldı, dişte mekanik travma yaratmadan hava spreyi ile kurutuldu. Dişeti oluğu sıvısı örnekleri bu amaçla özel olarak hazırlanmış 2×8 mm lik periopaper (Periopaper® Oraflow Inc. New York, USA) yardımı ile elde edildi, her hasta için 4' er kağıt şerit olacak şekilde toplandı. Kağıt şeritler orta derecede basınç hissedilinceye kadar dişeti oluğunun içine 1 mm yerleştirilerek 30 saniye bekletilerek elde edildi. Tükürük ve kanla kontamine olan kağıt şeritler çalışmaya dahil edilmedi (Şekil 5.1).

Örnek alımından önce her biri 4 tane kağıt şerit içeren 1 polipropilen tüp, hasta kodu verilerek, laboratuarda hassas terazi (Precisa 205 A SCS, İsviçre) ile tartıldı ve tartımlar mg olarak kaydedildi. Örneklerin toplanmasını takiben DOS içeren kağıt şeritler polipropilen tüplere aktarıldı ve propilen tüpler yeniden tartılarak, DOS miktarı her bir birey için mg olarak kaydedildi. Tüpün ağız kısmı parafilm bant ile sarılarak ortam ile teması engellendi. Örnekler biyokimyasal analizler yapılncaya dek Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Patoloji Bölümünde mevcut olan -30°C soğutucularda muhafaza edildi.



Resim 3.1. DOS örneklerinin toplanması

3.5.2. Gingival doku örneklerinin toplanması

Dişeti büyümesi tespit edilen hasta gruplarında, DOS alımını takiben aynı örnek bölgelerinden, aynı seansta hastaların rutin tanı ve/ veya tedavileri esnasında eksize edilen doku parçaları, örnek tüplerine alındı. Lokal anestezi altında, dişeti marjini, sulkular epitel ve gingival bağ dokusunu içerecek ve 1-2 mm subgingival olacak şekilde 15 no' lu bistüri ile insizyonlar yapılarak, her hastadan 1 doku örneği alındı [275].

Kontrol grubunda; Aynı metodlarla klinik ölçümler yapıldı, diş fırçalama konusunda bilgi verildi, günde 2 kez diş fırçalama yapmaları istendi ve 1 hafta sonra örnekleme yapmak amacıyla çağrılarak, DOS alımını takiben rutin estetik kuron boyu uzatma işlemi sırasında eksize edilen dokular 0,5 ml RNA stabilizasyon solüsyonu (RiboSave, GeneAll, Seoul, Korea) içeren, önceden hasta kodu verilen, polipropilen örnek tüplerine alındı (Şekil 5.2). Tüpün ağız kısmı parafilm bant ile sarılarak ortam ile teması engellendi. Alınan dokular analiz edilinceye kadar Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Patoloji Bölümünde mevcut olan -80°C' da soğutucularda muhafaza edildi.

Tüm guplardaki DOS ve doku örneklerin tamamlanmasını takiben örnekler özel muhafaza ve taşıma koşulları sağlanarak, 10 kg' lık kuru buz ile 4 cm kalınlığında kilitli kapaklı strafor içerisinde aynı gün içerisinde Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına transfer edildi. DOS ve doku sitokin örnekleri ELİSA ve moleküler düzeyde Real-Time qPCR tekniği ile kantitatif olarak ekspresyonlarının belirlenmesi yöntemleri ile Uşak üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında değerlendirildi.



Resim 3.2. Gingival doku örneklerinin toplanması

3.6. Biyokimyasal Analizler

3.6.1. DOS örneklerinin Laboratuvar Çalışmaları

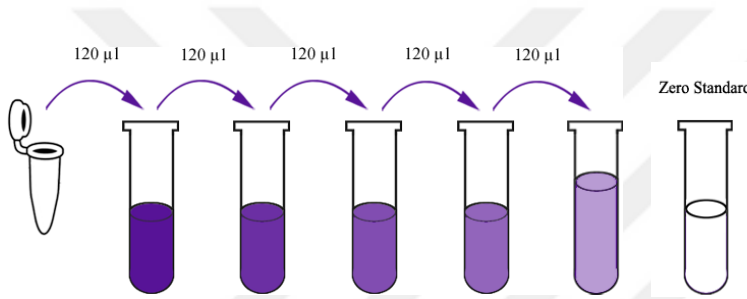
Elde edilen DOS örneklerinin analizi için ependorf tüpler içerisinde muhafaza edilen periopaper örneklerindeki TNF- α , TGF- β , Fraktalkin konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla ELİSA yöntemi kullanıldı.

Dişeti oluğu sıvısındaki TNF- α , düzeyleri ticari TNF- α ELİSA kit (Bt-Laboratory Human Tumor Necrosis Factor Alpha ELISA Kit, hassasiyet düzeyi 1.52 ng/ml, Shanghai, Çin), Fraktalkin düzeyleri ticari Fraktalkin ELİSA kit (Bt-Laboratory Human CX3C-chemokine/Fractalkine ELISA Kit, hassasiyet düzeyi 0.051 ng/ml, Shanghai, Çin), TGF- β düzeyleri ticari TGF- β ELİSA

kit (Bt-Laboratory Human Transforming Growth Factor Beta 1 ELISA Kit, hassasiyet düzeyi 5.11 ng/ml, Shanghai, Çin) kullanılarak ‘Sandwich ELİSA ’ yöntemiyle belirlendi. Analizde kullanılan çözeltiler, kitte bildirilen işlemlere uygun olarak hazırlandı.

Hazırlık:

1. Örnekler çözündürülerek, oda sıcaklığına getirildi.
2. Yıkayıcı solüsyon: 580ml dH₂O + 20 ml yıkayıcı solüsyon konsantresi
3. Standartlar için 6 adet 1.5 ml’ lik ependorf tüplere 120 ul Referans Standart ve Örnek Dilüsyon eklendi ve aşağıdaki adım takip edildi.



Şekil 3.2. Dilüsyon protokolü

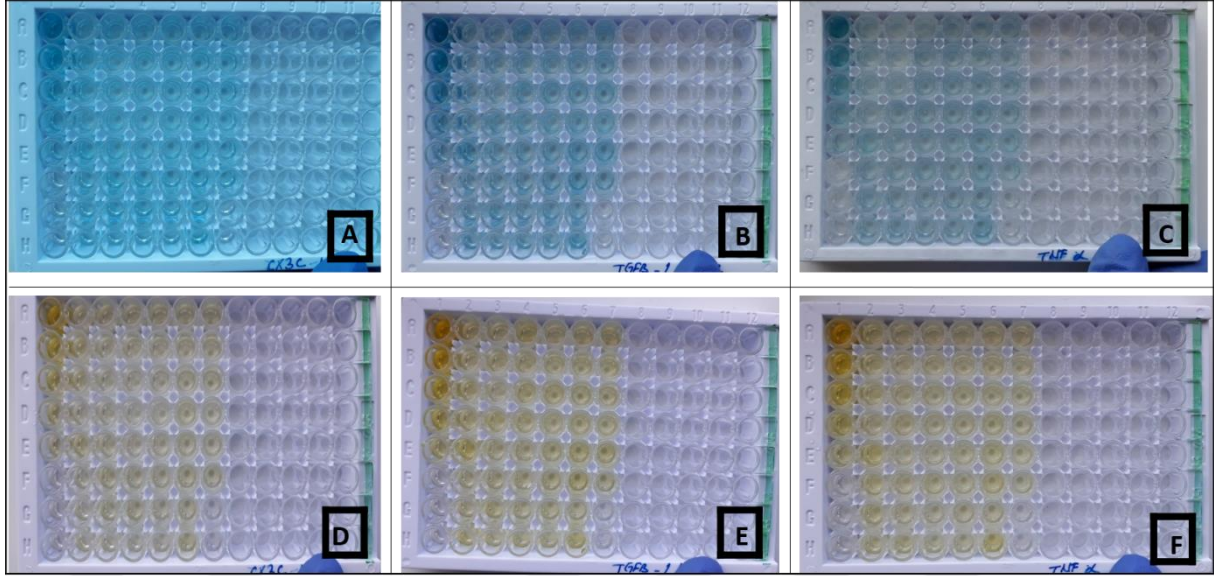
1. 120 ul standart A1 sütunundan sırası ile F1’ e kadar eklendi.
2. Standart kuyucuğuna 50 ul standart eklendi (Not: standart kuyucuğa antikor eklenmedi çünkü standart solüsyonu biotin antikor içermektedir).
3. Örnekler her örnek çift kuyucuk çalışılacak şekilde üretici firma talimatlarına göre 40 ul hacminde mikrokuyucuklara aktarıldı ve daha sonra örnek kuyucuğuna 10 ul antikor eklendi. Ardından hem örnek hem standart kuyucuğuna 50 ul streptavidin-HRP eklendi (Not: Blank’ a eklenmedi). Kuyucuk karıştırıldı. Plaklar kapatıcı yapışkan bir bant ile örtülüp 60 dk. 37° de inkübe edildi.
4. Plaktaki sıvı ortamdan uzaklaştırıldı ve hazırlanan yıkayıcı solüsyon her bir kuyucuğa 300 ul eklenerek 5 kez yıkama yapıldı (her bir yıkamada max. 1dk beklendi).
5. Herbir kuyucuğa 50 ul substrat A solüsyonu ve substrat B solüsyonu eklendi . Plaklar kapatıcı bant ile örtüldükten sonra karanlık ortamda 10 dk. 37° de inkübe edildi.

6. Her bir kuyucuğa 50 ul sonlandırıcı solüsyon eklendi ve Elisa okuyucu cihazı (Thermofisher Scientific Multisky, Massachusetts, ABD) ile açık okuma yapıldı.

Deney Protokolü

Kit içerisinde gelen plak, araştırılan biyomolekülün antikoruna ile önceden kaplanmıştır. Örnekte bulunan biyomolekül kuyucuklara eklendiğinde, kuyucuklardaki önceden kaplanan antikorlara bağlandı. Sonra araştırılan biyomolekülün biyotinle işaretlenmiş antikoruna eklendi ve numunedeki biyomoleküle bağlandı. Daha sonra Streptavidin-HRP eklendiğinde biyomolekülün biyotinle işaretlenmiş antikoruna bağlandı. Bir inkübasyon aşamasından sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama işlemiyle uzaklaştırıldı. Daha sonra substrat çözeltisi ilave edildi ve araştırılan biyomolekülün miktarıyla orantılı olarak renklenme oluştu. Renklenme reaksiyonu, asidik durdurma çözeltisi ilave edilerek sonlandırıldı. Optik dansite (OD), 450 nm $\pm$ 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. OD değeri, araştırılan molekülün konsantrasyonu ile orantılıdır (Resim 3.3).

Numune içerisindeki araştırılan biyomolekülün seviyesini belirlemek için, kullanılan standartların konsantrasyonu ve bu standartların OD değeri yatay-dikey eksen üzerine grafik çizilerek hesaplanabilmektedir. Standart konsantrasyonların ve OD değerlerinin grafikteki kesiştiği noktalara göre en uygun eğri çizilerek standart bir eğri oluşturulmuştur. Numunelerin OD' si standart eğriyle karşılaştırılarak numunelerdeki araştırılan molekülün konsantrasyonu hesaplanmıştır.



Resim 3.3. (A) Fraktalkin ELISA testinde substrat solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü (B) TGF- β ELISA testinde substrat solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü (C) TNF- α ELISA testinde substrat solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü (D) Fraktalkin ELISA testinde stop solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü (E) TGF- β ELISA testinde stop solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü (F) TNF- α ELISA testinde stop solusyonu ilavesinden sonraki plak görüntüsü

3.6.2. Gingival Doku Örneklerinin PCR Analizi

TNF- α , Fraktalkin, TGF- β için PCR Protokolü

Moleküler Çalışmalar

1. mRNA İzolasyonu

mRNA izolasyonu için GeneAll RiboEx (GeneAll, Seoul, Korea), GeneAll Hybrid-R (GeneAll Seoul, Korea) kitleri kullanılmıştır.

mRNA izolasyon protokolü aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Örneklerin homojenize edilmesi;

Çalışılan doku örneği; 100 mg doku bistüri ile küçük parçalara ayrılarak homojenize edildi ve üzerine 1 mL RiboEx eklenerek vortekslendi.

2. Oda ısısında 5 dk. inkübe edildi.

3. Karışım 11.000 rpm, 10 dk, 4°C koşullarında santrifüj yapıldı ve süpernatant başka bir tüpe aktarıldı.
4. Karışım üzerine 200 µL kloroform eklendi karıştırıldı, 2 dk inkübe edildi.
5. +4°C de 12.000×g' de 15 dk santrifüj yapıldı. Süpernatant temiz bir tüpe alındı.
6. Süpernatantın hacmi kadar RB1 Buffer eklendi. Pipetaj yapılarak karıştırıldı.
7. 700 µL karışım kolona aktarıldı.
8. 10.000×g' de 30 sn santrifüj yapıldı. Toplama tüpü yenisi ile değiştirildi.
9. Karışımdan kalan miktar olması durumunda 7-8 işlemler tekrarlandı.
10. Kolon üzerine 500 µL SW1 Buffer eklendi.
11. 10.000×g' de 30 sn santrifüj yapıldı. Toplama tüpü yenisi ile değiştirildi.
12. Kolon üzerine 500 µL RNW Buffer eklendi.
13. 10.000×g' de 30 sn santrifüj yapıldı. Toplama tüpü yenisi ile değiştirildi.
14. Kolon içinde kalan yıkama solüsyonlarını uzaklaştırmak için 10.000×g' de 1 dk santrifüj yapıldı. Daha sonra kolon temiz bir tüpe alındı.
15. Kolon üzerine 50 µL RNase-free su (Ribonükleaz içermeyen su) eklendi ve 1dk oda sıcaklığında bekletildi.
16. Sonra 10.000×g' de 1 dk santrifüj yapılarak elde edilen mRNA örnekleri -80°C sıcaklıkta donduruldu.

2. cDNA Sentezi

mRNA izolasyonu sonrasında cDNA sentezi aşamasına geçilmiştir. cDNA sentezi için GeneAll HyperScript™ First strand synthesis kit (GeneAll, Seoul, Korea) kullanıldı.

1. cDNA sentezi için kullanılan mastermix bilgileri Çizelge 3.1' de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. cDNA sentezi için kullanılan mastermix bileşenleri

Bileşen	Hacim
RNA örneği	2 µl
Primer	1 µl
dNTP mix	1 µl
RNase-Free Distilled Water	10 µl

2. cDNA mastermix hazırlandıktan sonra 65 °C sıcaklıkta 5 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında karışım buz üzerine alındı.

3. Çizelge 3.2’ de adı ve miktarları belirtilen bileşenler cDNA mastermix üzerine eklendi ve homojen olarak karışması sağlandı.

Çizelge 3.2. cDNA mastermix üzerine eklenen bileşenler

Bileşen	Hacim
10X RTase Reaksiyon Buffer	2 µl
0.1 M DTT	2 µl
Reverse Transcriptase	1 µl
RNase Inhibitor	1 µl

4. cDNA sentezi için mastermix hazırlandıktan sonra reverse transkripsiyon reaksiyonuna geçilmiştir. cDNA sentezi için kullanılan reverse transkripsiyon reaksiyonunun koşulları Çizelge 3.3’ te belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. cDNA sentez reaksiyon koşulları

cDNA Sentez Reaksiyonu Koşulları		
	Adım 1	Adım 2
Sıcaklık (°C)	55	85
Süre	60 dk	5 dk

Elde edilen cDNA örnekleri Real-Time PCR aşamasına kadar -80°C sıcaklıkta donduruldu.

3. Real-Time qPCR

cDNA elde edildikten sonra Real-Time qPCR aşamasına geçilmiştir. Real-Time qPCR için GeneAll RealAmp™ SYBR qPCR Master mix kiti (GeneAll, Seoul, Korea) kullanılmıştır.

Ekpresyon analizi için kullanılan primere ait bilgiler (Sentebiolab,Türkiye) Çizelge 3.4’ te belirtilmiştir.

Çizelge 3.4. qPCR reaksiyonunda kullanılan primerler

Primer Adı	Primer Dizisi
TNFα-F	CTCCTCACCCACACCATCAG
TNFα-R	ATCCCAAAGTAGACCTGCCC
TGFβ-F	GAGCTGCGTCTGCTGAG
TGFβ-R	CCTCAATTTCCCCTCCACGG
Fractalkin-F	CCACCTTCTGCCATCTGACT
Fractalkin-R	TCTCCAAGATGATTGCGCGT
ACTB-F	ACTCTTCCAGCCTTCCTTC
ACTB-R	ATCTCCTTCTGCATCCTGTC

F:forward, R:reverse

Real-Time qPCR için kullanılan mastermixe ait bilgileri aşağıdaki Çizelge 3.5' te belirtilmiştir.

Çizelge 3.5. Real-Time qPCR için kullanılan MasterMix bileşenleri

Real-Time qPCR için Kullanılan MasterMix Bilgileri	
MasterMix Bileşenleri	Hacim
2X MasterMix (with SYBR-Green)	10 μ l
ROX Dye	1 μ l
Forward Primer (10 μ M)	1 μ l
Reverse Primer (10 μ M)	1 μ l
cDNA Template	4 μ l
RNase-Free Distilled Water	3 μ l
TOPLAM	20 μ l

Mastermix hazırlandıktan sonra Real-Time qPCR reaksiyonuna geçilmiştir. Real-Time qPCR için kullanılan reaksiyon koşulları Çizelge 3.6' da belirtilmiştir. Real-Time qPCR reaksiyonu Applied Biosystems™ 7500 Fast Real-Time PCR cihazında (Applied Biosystems California, USA) gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.6. Real-Time qPCR reaksiyon koşulları

Real-Time qPCR Reaksiyonu Koşulları			
PCR Step	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Initial Denaturation	95	300 sn	1
Denature	95	15 sn	40
Anneal	55 – 68	60 sn	
Melting Curve	65 – 95	2 - 5 sn/step	1

4. Relatif Kantitasyon Hesaplanması

mRNA ekspresyonları kantitasyonu ACTB transkripti referans olarak kullanılıp kontrol gurubuna göre normalize edilmiştir. Relatif kantifikasyon hesaplamasında “ $\Delta\Delta Ct$ Yöntemi” kullanılmıştır. $\Delta\Delta Ct$ hesaplaması aşağı açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Hem hedef grupta hem de referans grupta her bir örneğin hem hedef mRNA hem de referans RNA için Real-Time PCR sonucunda Ct değerleri elde edilmiştir.
2. Hedef grupta hedef mRNA Ct değerinden referans RNA Ct değeri çıkarılarak hedef grup ΔCt değerleri elde edilmiştir.
3. Referans grupta hedef mRNA Ct değerinden referans RNA Ct değeri çıkarılarak referans grup ΔCt değerleri elde edilmiştir.
4. Hedef grup ΔCt değerlerinden referans grup ΔCt değerleri çıkarılarak $\Delta\Delta Ct$ değerleri elde edilmiştir.
5. $\Delta\Delta Ct$ değerleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ şeklinde işleme alınarak kat değişimi (Fold Change) hesaplanması yapılmıştır.

Fold Change değeri 1’ in üzerinde çıkması durumunda hedef grubu mRNA ekspresyonunun referans grubun mRNA ekspresyonuna göre relatif olarak artış gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır. Fold Change değeri 1’ in altında çıkması durumunda ise hedef grubu mRNA ekspresyonunun referans grubun mRNA ekspresyonuna göre relatif olarak azalış gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır.

3.7. İstatistiksel Yöntem

“ Dişeti Büyümelerinde Etkili Olan TNF- α , Fraktalkin ve TGF- β Kemokin Seviyelerinin Değerlendirilmesi ” isimli çalışmamızda güç analizi için PS version 3.0 paket programı kullanıldı. Ortalama değişim bakımından gruplar arasındaki önemli kabul edilecek en küçük fark= $\Delta=0,50$, $\alpha=0,05$, testin gücü $1-\beta=0,80$, tekrarlar arası korelasyon $\rho=0,20$ varsayılmış ve toplam örneklem büyüklüğünün Plak grubu 17, ilaç (Amlodipin) grubu 18 ve Kontrol grubu 10 olmak üzere en az 45 olmasına karar verildi.

Yapılan çalışmada verilerin analizi için SPSS 20 paket programı kullanıldı. Öncelikle verilerin normal dağılıma sahip olup olmadığına bakıldı ve Kolmogorov Smirnov adaptasyon testi yapılarak tüm değişkenlerin normal dağıldığı görölerek, parametrik testler kullanıldı. Bağımsız 3 grup arasında fark olup olmadığını tespit etmek için ANOVA testi kullanıldı. Anova testi sonucunda gruplar arasında fark bulunduğunda farklı olan grubu tespit etmek için Post-hock testlerinden TUKEY HSD testi uygulanarak farklı olan grup test edildi.

Cinsiyete göre farklılık araştırırken Cross-Tabs çapraz tablosuna bakıldı ve Kİ-KARE testi uygulanarak farklılık araştırıldı.

Testlerin sonuçları değerlendirilirken anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak kullanıldı, $p<0,05$ olması durumunda anlamlı bir farklılığın /ilişkinin olduğu , $p>0,05$ olması durumunda ise anlamlı bir farklılığın/ilişkinin olmadığı belirtildi. Bağımsız gruplar arasında ilişki miktarı korelasyon katsayısı ile araştırıldı ve katsayının önemliliği test edildi. Çalışmada korelasyon testleri Pearson Korelasyon Testi ile yapıldı.



4. BULGULAR

Çalışmaya, 17 plağa bağlı dişeti büyümesi olan (P grubu), 18 KKB (amlodipine) kullanımına bağlı dişeti büyümesi olan (İ grubu) ve 10 dişeti büyümesi olmayan, sistemik olarak sağlıklı ancak estetik kuron boyu uzatma operasyonu yapılacak olan (K grubu) toplam 45 birey dahil edildi. Çalışmaya katılan tüm bireylerin başlangıç tüm ağız ve örneklem bölgelerine ait plak indeksi (Pi), gingival indeks (Gi), sondlama cep derinliği (CD), dişeti büyüme indeksi (DBİ) ve sondlamada kanama indeksi (SK) % değerleri kaydedilerek, DOS ve gingival doku örnekleri toplandı. Alınan DOS örneklerinde TNF- α , TGF- β ve Fraktalkin düzeyleri ELİSA metoduyla, doku örneklerindeki TNF- α , TGF- β ve Fraktalkin düzeyleri ise qPCR metoduyla belirlendi.

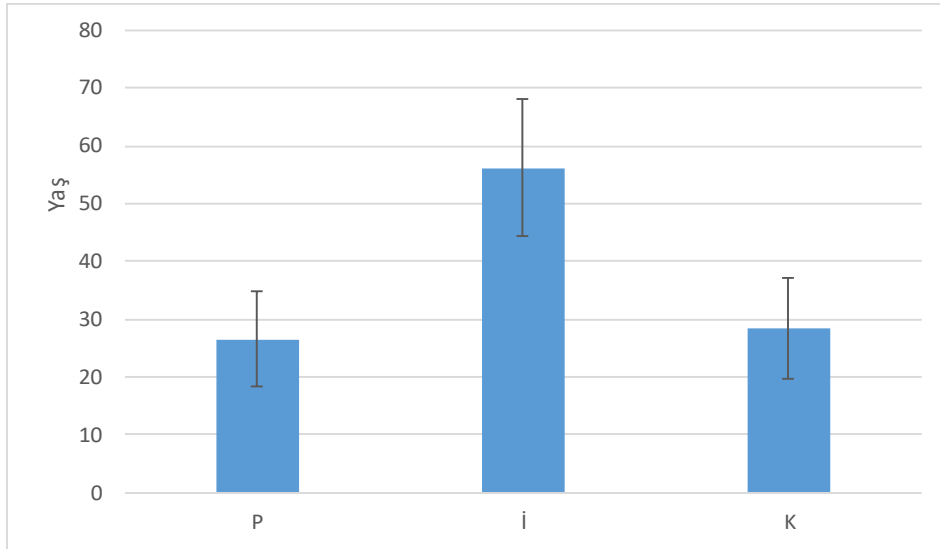
4.1. Demografik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen hastalar yaş ve cinsiyet açısından değerlendirildi. Yaş ortalaması P grubunda $26,52 \pm 8,17$, İ grubunda $56,16 \pm 11,9$ ve K grubunda $28,40 \pm 8,68$ olarak belirlendi. Çalışmada yer alan 3 grup arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p < 0,05$). İ grubuna ait yaş ortalaması, hem P hem de K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek iken ($p < 0,05$); P ve K grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p > 0,05$) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. P, İ ve K gruplarında yaş ortalamalarının dağılımı

	Gruplar	n	ort $\pm$ std.sapma	P		P
Yaş	P	17	$26,52 \pm 8,17$	0,000*(^a)	P - İ	0,000*(^b)
	İ	18	$56,16 \pm 11,9$		İ - K	0,000*(^b)
	K	10	$28,40 \pm 8,68$		P - K	0,885 (^b)

n:örnek sayısı, *: $p < 0,05$, a: ANOVA üç grup arasında istatistiksel farklılık, b: Tukey HSD iki grup arasında istatistiksel farklılık



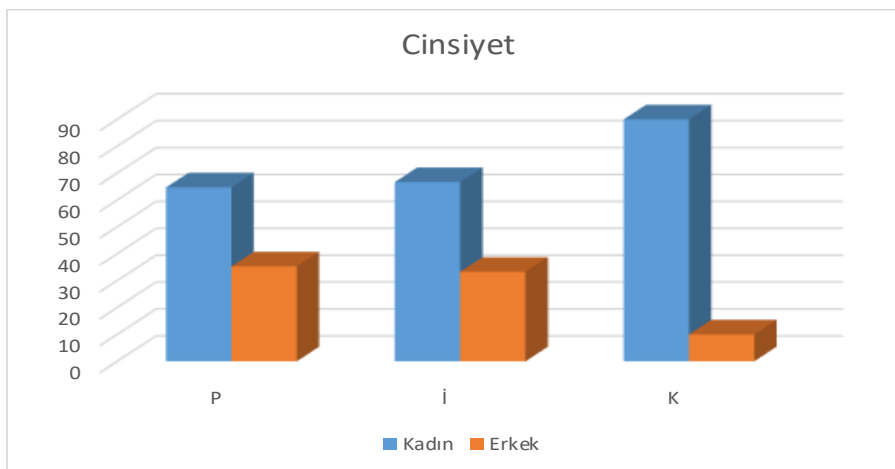
Şekil 4.1. P, İ, K gruplarında yaş ortalamalarının grafiği

Cinsiyet dağılımları incelendiğinde çalışmaya katılanların %71,1' ini kadın (n:32), %28,9' nu ise erkek (n:13) bireyler oluşturdu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$) (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. P, İ ve K gruplarında cinsiyetlerin karşılaştırılması

Cinsiyet		Plak		İlaç		Kontrol		Toplam		p ^(a)
		N	%	n	%	n	%	n	%	
	Kadın	11	64,7	12	66,7	9	90	32	71,1	
	Erkek	6	35,3	6	33,3	1	10	13	28,9	

n:örnek sayısı, *: $p<0,05$, a: Ki kare testi



Şekil 4.2. P,İ,K gruplarında cinsiyet dağılımının grafiği

4.2. Klinik Bulgular

4.2.1. Tüm ağız klinik periodontal bulgular

Her 3 gruba ait çalışmaya dahil edilen hastaların ilk muayene sırasında tüm ağız ve örneklem bölgesi klinik periodontal ölçümleri kaydedildi ve birbirleriyle karşılaştırıldı.

P, İ, K gruplarına ait tüm ağız klinik periodontal ölçüm değerleri ve karşılaştırmaları çizelge 4.3' te gösterilmektedir.

Tüm ağız Pİ ortalama ölçümleri değerlendirildiğinde; P, İ ve K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı ($p < 0,05$). P ($1,54 \pm 0,48$) ve İ ($1,30 \pm 0,43$) gruplarına ait Pİ değerleri ortalamaları K ($0,67 \pm 0,44$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek iken ($p < 0,05$); P ve İ grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p > 0,05$).

Tüm ağız Gİ ortalamaları değerlendirildiğinde; P, İ ve K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık tespit edildi ($p < 0,05$). P ($1,21 \pm 0,42$) ve İ ($1,06 \pm 0,50$) gruplarına ait tüm ağız Gİ ortalamaları K ($0,51 \pm 0,35$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek iken ($p < 0,05$); P ve İ grupları tüm ağız Gİ ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).

Tüm ağız CD ortalamaları değerlendirildiğinde P, İ ve K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı ($p < 0,05$). P ($2,67 \pm 0,52$) ve İ ($3,06 \pm 0,62$) gruplarına ait tüm ağız sondlamada CD ortalaması K ($2,12 \pm 0,39$) grubu tüm ağız sondlamada CD ortalamasına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek iken ($p < 0,05$); P ve İ grupları arasında tüm ağız sondlamada CD ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

Tüm ağız SK ortalamaları değerlendirildiğinde P, İ ve K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark saptandı ($p < 0,05$). P ($61,32 \pm 20,94$) ve İ ($54,11 \pm 26,83$) gruplarına ait tüm ağız SK yüzdesi ortalaması K ($25,01 \pm 19,74$) grubuna göre istatistiksel olarak

anlamli düzeyde yüksek iken ($p<0,05$); P ve İ grupları arasında tüm ağız SK ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamli bir farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).

Tüm ağız DBİ ortalamaları değerlendirildiğinde P, İ ve büyüme gözlenmeyen K grupları arasında istatistiksel olarak anlamli derecede fark saptandı ($p<0,05$). P ($1,65 \pm 0,27$) ve İ ($1,49 \pm 0,34$) gruplarının tüm ağız DBİ ortalamaları K ($0,00 \pm 0,00$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamli düzeyde yüksek iken ($p<0,05$); P ve İ grubu tüm ağız DBİ ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamli bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Çizelge 4.3. P, İ ve K gruplarında tüm ağız klinik parametrelerinin karşılaştırılması

Klinik Parametreler (Tüm Ağız)	Gruplar	n	Ort±Std.sapma	Ortanc a	Minimum	Maksimum	p	Gruplar arası	P
Pİ	P	17	1,54 ± 0,48	1,66	0,20	2,25	0,000*(a)	P-K	0,000 *(b)
	İ	18	1,30 ± 0,43	1,36	0,40	2,16		İ-K	0,003 *(b)
	K	10	0,67 ± 0,44	0,66	0,03	1,36		P-İ	0,257(b)
Gİ	P	17	1,21 ± 0,42	1,30	0,40	1,87	0,001*(a)	P-K	0,001 *(b)
	İ	18	1,06 ± 0,50	1,03	0,35	2,00		İ-K	0,008 *(b)
	K	10	0,51 ± 0,35	0,50	0,05	1,30		P-İ	0,620(b)
CD (mm)	P	17	2,67 ± 0,52	2,66	1,90	3,71	0,000*(a)	P-K	0,044 *(b)
	İ	18	3,06 ± 0,62	3,18	2,06	4,30		İ-K	0,000 *(b)
	K	10	2,12 ± 0,39	2,09	1,64	3,12		P-İ	0,098(b)
SK (%)	P	17	61,32±20,94	67,80	12,00	92,80	0,001*(a)	P-K	0,001 *(b)
	İ	18	54,11±26,83	51,50	17,00	100,00		İ-K	0,008 *(b)
	K	10	25,01±19,74	43,50	0,00	100,00		P-İ	0,663(b)
DBİ	P	17	1,65 ± ,27	1,50	1,20	2,10	0,000*(a)	P-K	0,663(b)
	İ	18	1,49 ± ,34	1,40	1,00	2,30		İ-K	0,000 *(b)
	K	10	0,00 ± 0,00	0,00	0,00	0,00		P-İ	0,217(b)

n:örnek sayısı, *: $p<0,05$, a: ANOVA üç grup arasında istatistiksel farklılık, b: Tukey HSD iki grup arasında istatistiksel farklılık

4.2.2. Örneklem Bölgesi Klinik Periodontal Bulgular

P, İ, K gruplarının örneklem bölgesine ait klinik periodontal ölçüm değerleri ve karşılaştırılmaları çizelge 4.4' te gösterilmektedir.

P,İ ve K gruplarına ait örneklem bölgesi Pİ ortalama değerleri kaydedildi. Buna göre her 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0,05$). Pİ ortalamasının P ($1,91 \pm 0,71$) grubunda İ ($1,21 \pm 0,53$) ve K ($0,56 \pm 0,46$) gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptandı. Yine İ grubu Pİ ortalaması K grubuna göre anlamlı derecede yüksekti.

P,İ ve K gruplarına ait örneklem bölgesi Gİ ortalama değerleri kaydedildi. Buna göre her 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0,05$). P ($1,75 \pm 0,58$) ve İ ($1,46 \pm 0,56$) grubuna ait Gİ ortalaması K ($0,82 \pm 0,70$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek iken ($p < 0,05$), P - İ grubu örneklem bölgesi Gİ ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).

P,İ ve K gruplarına ait örneklem bölgesi CD ortalama değerleri kaydedildi. Buna göre 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı ($p < 0,05$). P ($3,25 \pm 0,73$) ve İ ($3,54 \pm 0,91$) gruplarına ait sondlamada CD ortalaması K ($2,49 \pm 0,44$) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek iken ($p < 0,05$), P - İ grubu örneklem bölgesi sondlamada CD ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).

P,İ ve K gruplarına ait örneklem bölgesi SK ortalama değerleri kaydedildi. Buna göre 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark saptandı ($p < 0,05$). P ($82,24 \pm 25,50$) ve İ ($72,11 \pm 29,08$) grubuna ait SK yüzdesi ortalaması K ($41,20 \pm 35,38$) grubu SK ortalamasına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek iken ($p < 0,05$), P - İ grubu örneklem bölgesi SK ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).

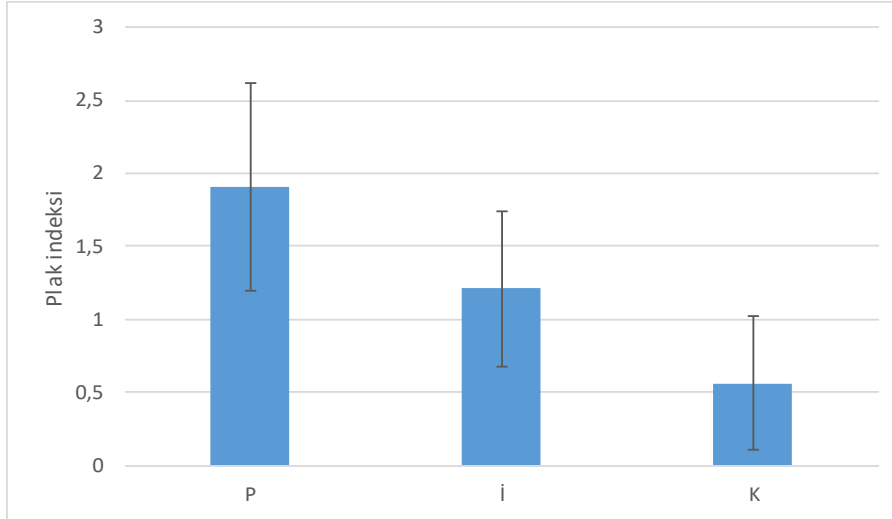
P,İ ve K gruplarına ait örneklem bölgesi DBİ ortalama değerleri kaydedildi. Buna göre 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark saptandı ($p < 0,05$). P ($2,08 \pm 0,40$) ve İ ($1,77 \pm 0,49$) grubu DBİ ortalaması K ($0,00 \pm 0,00$) grubu DBİ ortalamasına göre istatistiksel

olarak anlamlı düzeyde yüksek iken ($p < 0,05$), P - İ grubu örneklem bölgesi DBİ ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).

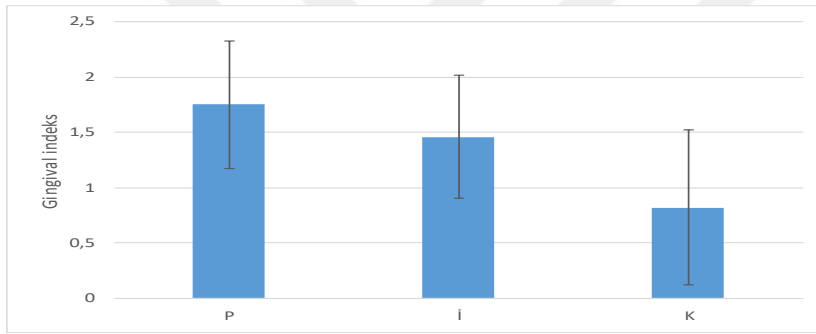
Çizelge 4.4. Örneklem bölgesi klinik ölçümlerin karşılaştırmaları

Klinik Parametreler (Örneklem bölgesi)	Gruplar	n	Ort±Std.sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum	p	Gruplar arası	P
Pİ	P	17	1,91 ± 0,71	2,00	0,25	3,00	0,000 ^{*(a)}	P-İ	0,003^{*(b)}
	İ	18	1,21 ± 0,53	1,12	0,37	2,75		P-K	0,000^{*(b)}
	K	10	0,56 ± 0,46	0,62	0,00	1,25		İ-K	0,022^{*(b)}
Gİ	P	17	1,75 ± 0,58	2,00	0,25	2,75	0,002 ^{*(a)}	P-İ	0,357 ^(b)
	İ	18	1,46 ± 0,56	1,50	0,25	2,00		P-K	0,001^{*(b)}
	K	10	0,82 ± 0,70	0,87	0,00	2,00		İ-K	0,028^{*(b)}
CD (mm)	P	17	3,25 ± 0,73	3,00	2,12	5,00	0,004 ^{*(a)}	P-İ	0,507 ^(b)
	İ	18	3,54 ± 0,91	3,50	2,00	5,25		P-K	0,042^{*(b)}
	K	10	2,49 ± 0,44	2,25	1,91	3,25		İ-K	0,003^{*(b)}
SK (%)	P	17	82,24 ± 25,50	2,25	12,00	100	0,004 ^{*(a)}	P-İ	0,567 ^(b)
	İ	18	72,11 ± 29,08	75,00	12,00	100		P-K	0,003^{*(b)}
	K	10	41,20 ± 35,38	75,00	0	100		İ-K	0,028^{*(b)}
DBİ	P	17	2,08 ± 0,40	2,00	1,50	3,00	0,000 ^{*(a)}	P-İ	0,068 ^(b)
	İ	18	1,77 ± 0,49	1,75	1,00	3,00		P-K	0,000^{*(b)}
	K	10	0,00 ± 0,00	0,00	0,00	00		İ-K	0,000^{*(b)}

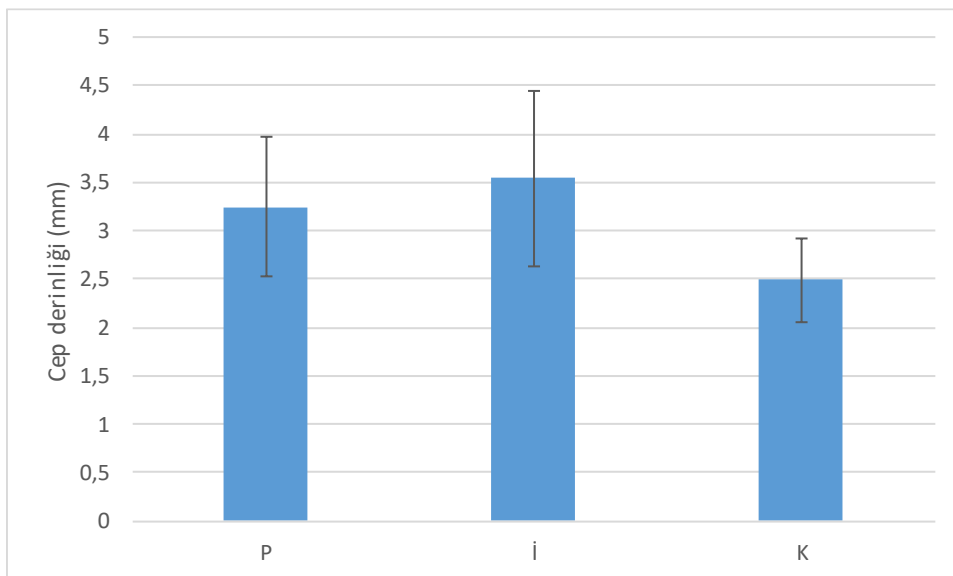
n:örnek sayısı, *= $p < 0,05$, a=ANOVA üç grup arasında istatistiksel farklılık ,b=Tukey HSD iki grup arasında istatistiksel farklılık



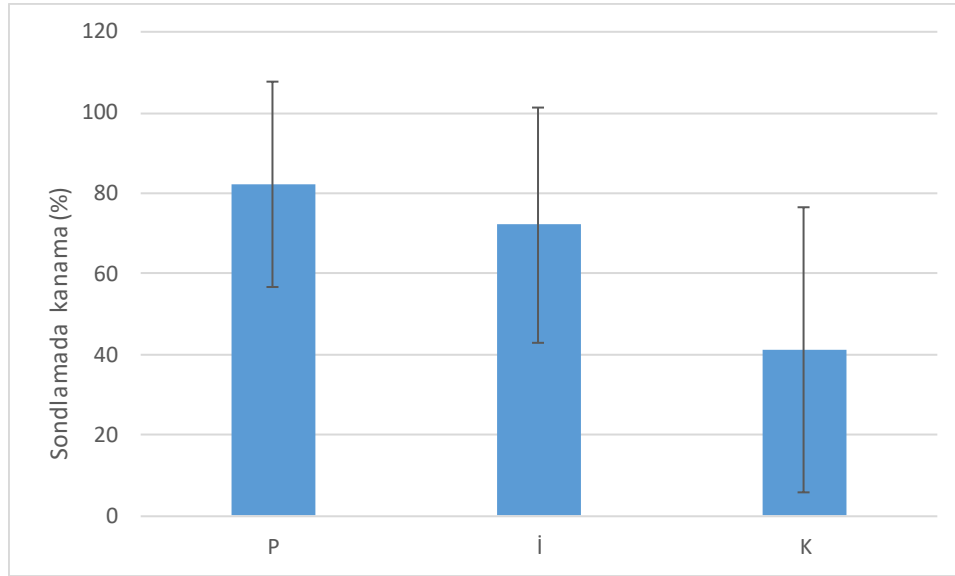
Şekil 4.3. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi plak indeksi skorları karşılaştırma grafiği



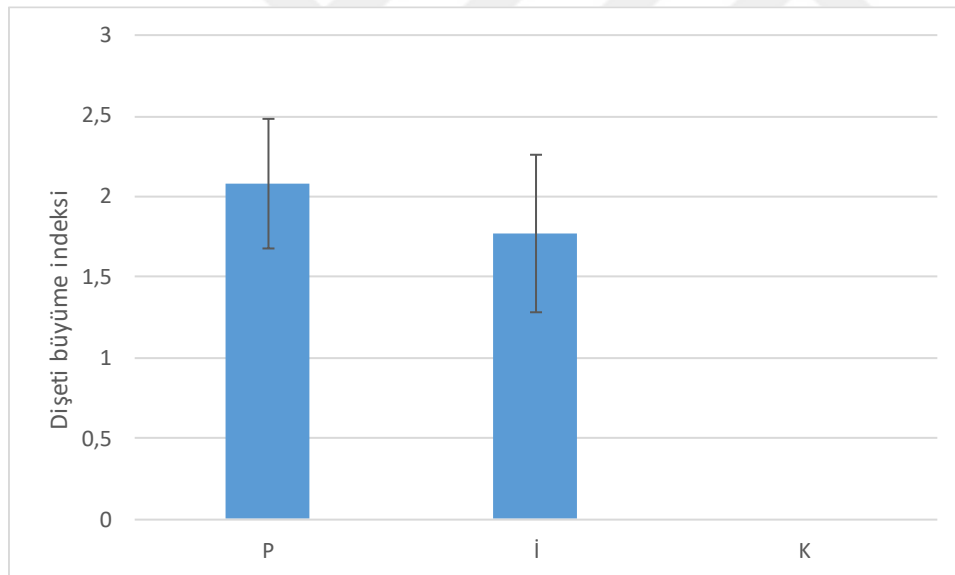
Şekil 4.4. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi gingival indeks skorları karşılaştırma grafiği



Şekil 4.5. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi cep derinliği skorları karşılaştırma grafiği



Şekil 4.6. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi sondlama kanama skorları karşılaştırma grafiği



Şekil 4.7. P, İ, K gruplarında örneklem bölgesi dişeti büyüme indeksi skorları karşılaştırma grafiği

4.3. Laboratuvar bulguları

4.3.1. Dişeti oluşu sıvısında TNF- α , TGF- β , Fraktalkin sitokin seviyeleri

Çalışma gruplarına ait örneklem bölgesi DOS TNF- α seviyesi konsantrasyon değerleri ve gruplara ait karşılaştırmalar Çizelge 4.5' te de yer almaktadır.

Çizelge 4.5. DOS' da TNF- α , TGF- β , FRAKTALKİN seviyeleri

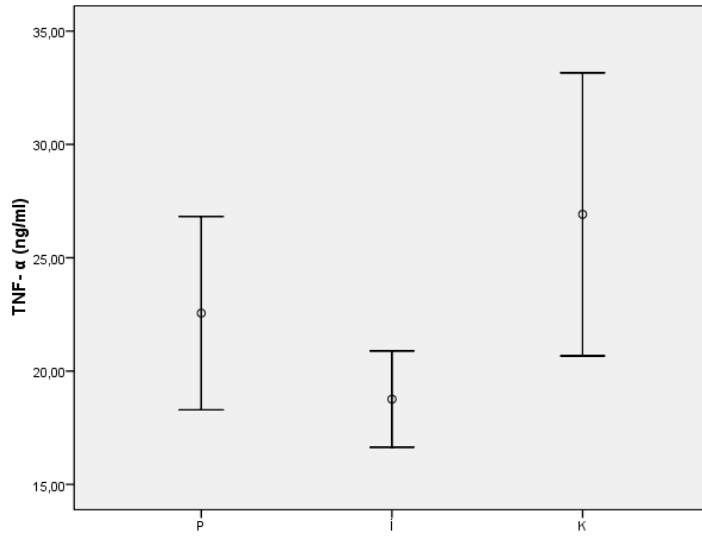
DOS	Gruplar	n	Ort±standart sapma	Ortanca	Minumum	Maksimum	p	Gruplar arası	P
TNF- α (ng/ml)	P	17	22,55 $\pm$ 8,29	19,21	15,27	48,10	0,019 ^{*(a)}	P-İ	0,262 ^(b)
	İ	18	18,76 $\pm$ 4,27	18,11	13,21	26,78		P-K	0,279 ^(b)
	K	10	26,91 $\pm$ 8,72	26,77	16,33	44,34		İ-K	0,015^{*(b)}
TGF- β (ng/ml)	P	17	127,38 $\pm$ 31,32	113,80	92,38	201,05	0,125 ^{*(a)}	P-İ	0,113 ^(b)
	İ	18	103,78 $\pm$ 26,23	94,04	69,30	172,57		P-K	0,862 ^(b)
	K	10	120,32 $\pm$ 48,60	103,06	81,13	241,81		İ-K	0,441 ^(b)
Fraktalkin (ng/ml)	P	17	0,81 $\pm$ 0,35	0,85	0,06	1,59	0,264 ^(a)	P-İ	0,340 ^(b)
	İ	18	0,60 $\pm$ 0,35	0,69	-,10	1,10		P-K	0,987 ^(b)
	K	10	0,83 $\pm$ 0,61	0,63	0,19	1,68		İ-K	0,365 ^(b)

n:örnek sayısı, *: p<0,05, a: ANOVA üç grup arasında istatistiksel farklılık, b: Tukey HSD iki grup arasında istatistiksel farklılık

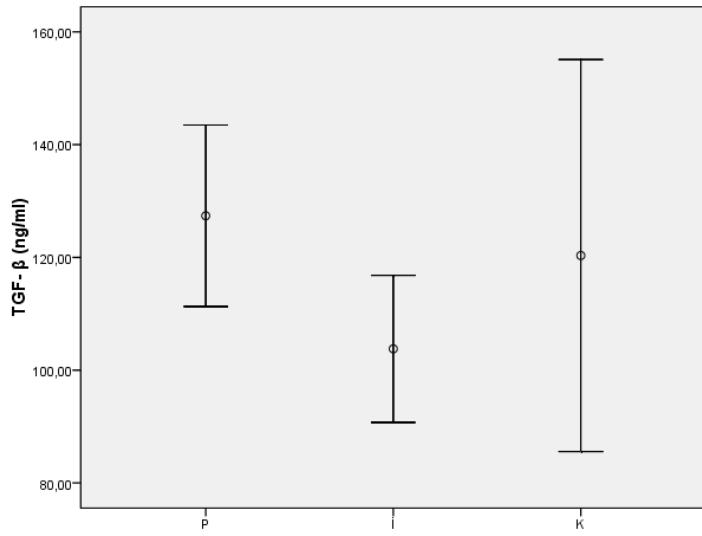
DOS' da birim konsantrasyonda TNF- α seviyesinin, P grubunda 22,55 $\pm$ 8,29 ng/ml, İ grubunda 18,76 $\pm$ 4,27, K grubunda 26,91 $\pm$ 8,72 ng/ml olduğu belirlendi. Çalışma grupları arasında DOS TNF- α seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık tespit edildi. Buna göre; İ grubu DOS TNF- α seviyesi K grubuna göre anlamlı derecede düşüktü (p<0,05) ancak; P - İ ve P - K grupları arasında DOS TNF- α seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi (p>0,05).

DOS' da birim konsantrasyonda TGF- β seviyesinin P grubu 127,38 $\pm$ 31,32, İ grubu 103,78 $\pm$ 26,23, K grubunda 120,32 $\pm$ 48,60 ng/ml olduğu tespit edildi. Gruplar arasında DOS TGF- β seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

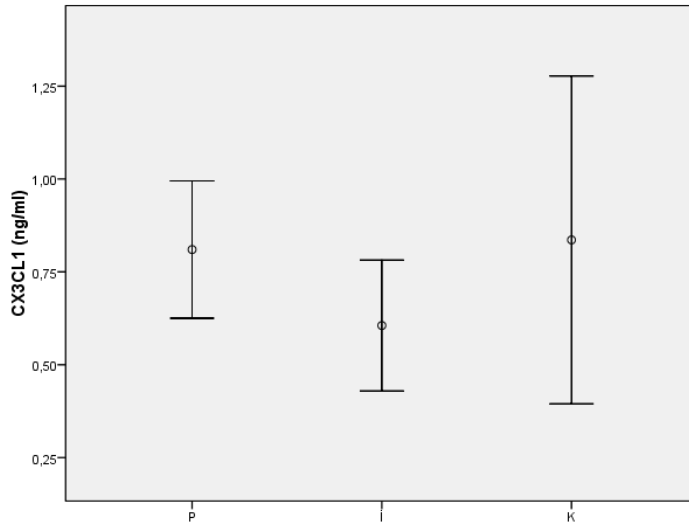
DOS' da birim konsantrasyonda Fraktalkin seviyesinin P grubunda 0,81 $\pm$ 0,35, İ grubunda 0,60 $\pm$ 0,35, K grubunda 0,83 $\pm$ 0,61 ng/ml olduğu tespit edildi. Gruplar arasında DOS Fraktalkin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi (p>0,05).



Şekil 4.8. DOS TNF- α seviyelerinin gruplara göre dağılımı



Şekil 4.9. DOS TGF- β seviyelerinin gruplara göre dağılımı



Şekil 4.10. DOS CX3CL1 seviyelerinin gruplara göre dağılımı

4.3.2. Gingival doku örneklerinde TNF- α , TGF- β , Fraktalkin sitokin seviyeleri

Çalışma gruplarına ait örneklem bölgesi doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkine seviyelerinin mRNA relatif ekspresyonlarının kat değişimleri ve gruplara ait karşılaştırmalar Çizelge 4.6' da yer almaktadır.

Çizelge 4.6. Doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyeleri

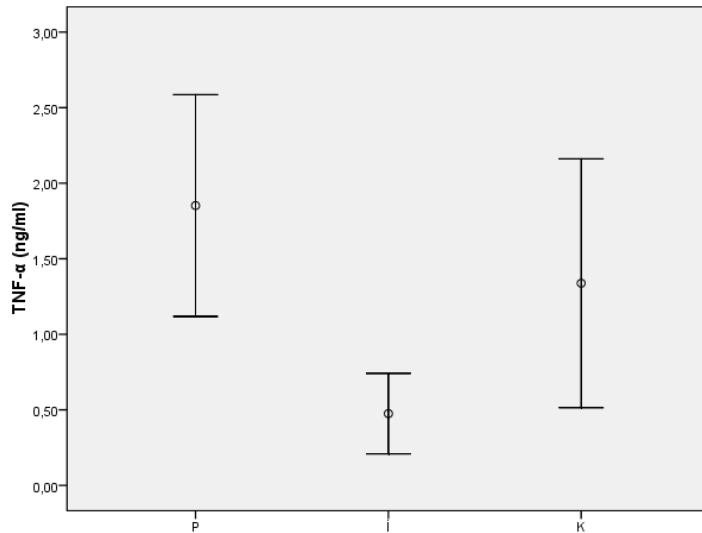
DOKU	Gruplar	n	Ort±Standart sapma	Ortanca	Minumum	Maksimum	p	Gruplar arası	P
TNF- α (ng/ml)	P	17	1,85 ± 1,42	1,47	0,00	5,38	0,002*(a)	P-İ	0,002 *(b)
	İ	18	0,47 ± 0,53	0,22	0,04	2,14		P-K	0,466 ^(b)
	K	10	1,33 ± 1,15	1,09	0,33	4,18		İ-K	0,120 ^(b)
TGF- β (ng/ml)	P	17	1,65 ± 1,13	1,49	0,28	3,71	0,071 ^(a)	P-İ	0,086 ^(b)
	İ	18	0,76 ± 0,98	0,30	0,00	3,11		P-K	0,993 ^(b)
	K	10	1,60 ± 1,60	1,22	0,22	5,43		İ-K	0,196 ^(b)
Fraktalkin (ng/ml)	P	17	2,59 ± 1,91	1,73	0,54	6,35	0,000*(a)	P-İ	0,000 *(b)
	İ	18	0,54 ± 0,68	0,23	0,00	2,49		P-K	0,103 ^(b)
	K	10	1,42 ± 1,30	0,99	0,30	4,05		İ-K	0,258 ^(b)

n:örnek sayısı, *: p<0,05, a: ANOVA üç grup arasında istatistiksel farklılık, b: Tukey HSD iki grup arasında istatistiksel farklılık

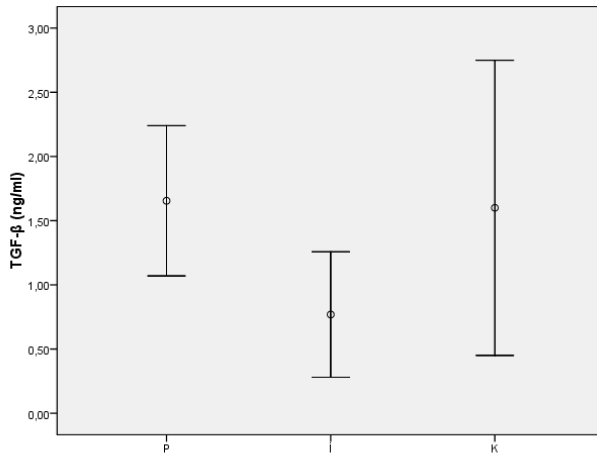
Doku TNF- α seviyesi P grubunda $1,85 \pm 1,42$, İ grubunda $0,47 \pm 0,53$ ve K grubunda $1,33 \pm 1,15$ olarak tespit edildi. 3 grup arasında doku TNF- α seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p < 0,05$). P grubunda TNF- α seviyesi İ grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p < 0,05$) ancak; P - K ve İ - K grupları arasında doku TNF- α seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).

Doku TGF- β seviyesinin P grubunda $1,65 \pm 1,13$, İ grubunda $0,76 \pm 0,98$ ve K grubunda $1,60 \pm 1,60$ olduğu tespit edildi. Gruplar arasında doku TGF- β seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

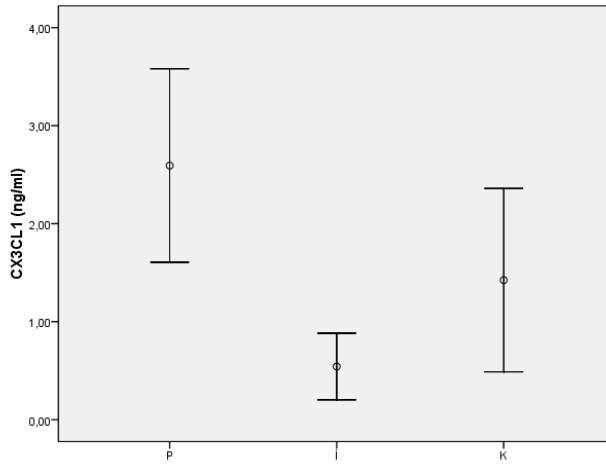
Doku fraktalkin seviyesi P $2,59 \pm 1,91$, İ $0,54 \pm 0,68$ ve K grubunda $1,42 \pm 1,30$ olarak tespit edildi. 3 grup arasında doku fraktalkin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p < 0,05$). Buna göre; P grubunda fraktalkin seviyesi İ grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p < 0,05$) ancak; P - K ve İ - K grupları arasında doku fraktalkin seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).



Şekil 4.11. Doku TNF- α seviyelerinin gruplara göre dağılımı



Şekil 4.12. Doku TGF- β seviyelerinin gruplara göre dağılımı



Şekil 4.13. Doku CX3CL1 seviyelerinin gruplara göre dağılımı

4.4. Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Korelasyon Analizleri

Çalışmamızda yer alan P, İ ve K gruplarına ait tüm ağız ve örneklem bölgesi klinik verileri (Pİ, Gİ, CD, SKİ, DBİ), DOS ve gingival doku örneklerinde TNF- α , TGF- β , Fraktalkin sitokin seviyeleri düzeylerini içeren klinik ve laboratuvar bulgularına ilişkin korelasyon verileri Pearson' s korelasyon analizi kullanılarak tespit edildi.

P Grubu Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Korelasyon Analizleri

P grubu tüm ağız klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde; Pi - Gİ ($r=0,640$), Gi - SK ($r=0,836$), Pi - SK ($r=0,576$) arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon saptandı. SK - DBİ ($r=-0,609$), Pi - DBİ ($r=-0,563$), Gi - DBİ ($r=-0,538$) arasında negatif yönde güçlü korelasyon tespit edildi ($p<0.05$).

P grubu örneklem bölgesi klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde ise Gİ - SK ($r=0,904$) arasında pozitif yönde çok güçlü korelasyon bulundu.

DOS ve doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyelerinin klinik parametreler ile korelasyon verileri incelendiğinde; Doku TNF - α seviyesi ile P grubu örneklem bölgesi DBİ arasında negatif yönde orta derecede bir korelasyon olduğu görülmüştür ($r=-0,532$) ($p<0,05$).

DOS TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyelerinin grup içi korelasyon değerleri incelendiğinde; DOS' da P grubunda TNF- α ile TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,770$), TNF- α ile Fraktalkine seviyeleri arasında ($r=0,745$), TGF- β ile Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,647$) arasında pozitif yönde güçlü korelasyon gözlenmektedir. Doku TNF- α ile TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,697$), TNF- α ile Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,689$), TGF- β ile Fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon gözlenmektedir ($r=0,903$) ($p<0,05$).

P grubu tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri Çizelge 4.7' de sunuldu.

Çizelge 4.7. P grubu tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

P	plak indeksi	gingival indeks	cep derinliği	sond.kanama	DBİ	DOS TNF- α	DOS TGF - β	DOS FRACT	Doku TNF- α	Doku TGF- β	Doku Fract
plak indeksi	1	,640** ,006	,245 ,343	,576* ,015	-,563* ,019	,058 ,825	-,248 ,337	,203 ,435	,351 ,168	,462 ,062	,322 ,207
gingival indeks		1	,285 ,268	,836** ,000	-,538* ,026	,033 ,899	-,256 ,322	,310 ,226	,067 ,800	,467 ,059	,374 ,139
cep derinliği			1	,316 ,217	-,126 ,629	,101 ,698	,117 ,655	,419 ,094	-,249 ,335	-,061 ,817	-,181 ,486
sond.kanama				1	-,609** ,010	,130 ,619	-,236 ,361	,270 ,294	-,151 ,564	,314 ,219	,210 ,419
DBİ					1	-,244 ,346	,046 ,861	-,086 ,744	,072 ,783	-,036 ,891	-,038 ,885
DOS TNF- α						1	,770** ,000	,745** ,001	-,098 ,709	-,001 ,996	,085 ,747
DOS TGF - β							1	,647** ,005	-,247 ,340	-,159 ,542	-,144 ,581
DOS Fract								1	-,019 ,943	,315 ,218	,354 ,163
Doku TNF- α									1	,697** ,002	,689** ,002
Doku TGF- β										1	,903** ,000
Doku Fract											1

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, Pearson korelasyon

P grubu örneklem bölgesi tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri Çizelge 4.8’ de sunuldu.

Çizelge 4.8. P grubu örneklem bölgesi tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

P örneklem bölgesi	Plak indeksi	Gingival indeks	Cep derinliği	Sond. kanama	DBİ	DOS TNF- α	DOS TGF- β	DOS Fract	Doku TNF- α	Doku TGF- β	Doku Fract
Plak indeksi	1	-,057	-,029	-,062	-,234	,121	-,183	,161	,059	,286	,236
		,828	,912	,813	,366	,645	,482	,536	,823	,265	,362
Gingival indeks		1	,058	,904**	,362	,241	,116	,099	-,249	-,113	-,083
			,824	,000	,153	,351	,658	,704	,335	,665	,752
Cep derinliği			1	,043	,301	-,107	,038	,237	-,411	-,139	-,302
				,869	,241	,683	,886	,359	,102	,594	,239
Sond. Kanama				1	,349	,074	-,013	-,041	-,309	-,068	-,080
					,169	,778	,962	,877	,227	,795	,761
DBİ					1	,034	-,026	-,140	-,532*	-,284	-,334
						,897	,922	,593	,028	,269	,190
DOS TNF- α						1	,770**	,745**	-,098	-,001	,085
							,000	,001	,709	,996	,747
DOS TGF- β							1	,647**	-,247	-,159	-,144
								,005	,340	,542	,581
DOS Fract								1	-,019	,315	,354
									,943	,218	,163
Doku TNF- α									1	,697**	,689**
										,002	,002
Doku TGF- β										1	,903**
											,000
Doku Fract											1

*, p< 0.05 , **: p <0.01, Pearson korelasyon

İ Grubu Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Korelasyon Analizleri

İ grubu tüm ağız klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde; Pİ - SK (r=0,618), Pİ - Gİ (r=0,588), Gİ - SK (r= 0,995) arasında pozitif yönde güçlü korelasyon tespit edildi.

İ grubu örneklem bölgesi klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde; Pİ - Gİ (r= 0,496) orta derecede, Pİ - SK (r=0,485) orta derecede, Gİ - SK (r=0,989) çok güçlü, CD ile DBİ (r=0,539) arasında pozitif yönde orta derecede korelasyon saptandı.

DOS ve doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyelerinin klinik parametreler ile korelasyon verileri incelendiğinde; Doku TGF- β seviyesi ile İ grubu örneklem bölgesi Gİ değerleri arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu görülmüştür ($r=-0,487$) ($p<0,05$).

DOS ve doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyelerinin grup içi korelasyon değerleri incelendiğinde; İ grubunda; Doku TNF- α - TGF- β ($r=0,773$), TGF- β ile fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir ($r=0,762$) ($p<0,05$). İ grubunda DOS' da TNF- α , TGF- β ve fraktalkin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon tespit edilmemiştir.

İ grubunda amlodipin kullanım süresi ve dozu ile tüm klinik parametreler ve DOS ve doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmedi ($p>0,05$).

İ grubu tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri Çizelge 4.9' da sunuldu.

Çizelge 4.9. İ grubu tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

i	plak indeksi	gingival indeks	cep derinliği	sond. kanama	DBİ	DOS TNF-α	DOS TGF-β	DOS Fract	Doku TNF-α	Doku TGF-β	Doku Fract	ilaç doz	ilaç süre
plak indeksi	1	,588*	,366	,618**	,141	,386	-,120	,412	-,384	-,438	-,404	,134	,182
		,010	,135	,006	,577	,113	,635	,089	,116	,069	,096	0,597	0,470
gingival indeks		1	,273	,995**	,044	,424	-,030	,364	-,321	-,158	-,227	-,099	,196
			,273	,000	,863	,080	,906	,138	,194	,531	,366	,695	,435
cep derinliği			1	,300	,315	,074	,087	,224	-,200	-,159	-,444	,358	,180
				,226	,202	,770	,733	,372	,426	,529	,065	,144	,476
sond.kanama				1	,042	,430	-,067	,404	-,319	-,140	-,246	-,105	,248
					,869	,075	,793	,096	,197	,580	,325	,677	,322
DBİ					1	-,139	,104	-,218	-,106	-,375	-,048	,112	,289
						,583	,683	,385	,677	,125	,850	,659	,245
DOS TNF-α						1	,172	,110	-,090	-,177	-,170	,112	,119
							,495	,664	,721	,483	,501	,659	,638
DOS TGF-β							1	,070	,164	,170	-,111	-,185	-,118
								,782	,516	,501	,662	,464	,642
DOS Fract								1	,106	,271	-,087	-,050	,026
									,675	,277	,731	,845	,917
Doku TNF-α									1	,773**	,762**	,018	,018
										,000	,000	,944	,945
DokuTGF-β										1	,438	-,307	-,024
											,069	,216	,924
DokuFract											1	-,119	,002
												,639	,993
ilaç doz												1	,029
													,910
ilaç süre													1

*: p< 0.05 , **: p <0.01, Pearson korelasyon

İ grubu örneklem bölgesi klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri Çizelge 4.10' da sunuldu.

Çizelge 4.10. İ grubu örneklem bölgesi klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

İ örneklem bölgesi	Plak indeksi	Gingival indeks	Cep derinliği	Sond. kanama	DBİ	DOS TNF- α	DOS TGF- β	DOS Fract	Doku TNF- α	Doku TGF- β	Doku Fract
Plak indeksi	1	,496*	,121	,485*	,138	,321	-,009	,314	-,247	-,217	-,226
		,036	,632	,041	,585	,194	,970	,204	,323	,387	,366
Gingival indeks		1	,209	,989**	,195	,127	,026	-,161	-,293	-,487*	-,050
			,405	,000	,439	,614	,920	,524	,237	,040	,842
Cep derinliği			1	,194	,539*	-,270	,076	-,106	,057	-,181	,016
				,441	,021	,279	,766	,677	,821	,473	,949
Sond.kanama				1	,214	,064	,074	-,166	-,260	-,456	-,027
					,395	,800	,770	,511	,298	,057	,916
DBİ					1	,141	,056	-,090	,040	-,174	-,114
						,576	,827	,721	,874	,490	,653
DOS TNF- α						1	,172	,110	-,090	-,177	-,170
							,495	,664	,721	,483	,501
DOS TGF- β							1	,070	,164	,170	-,111
								,782	,516	,501	,662
DOS Fract								1	,106	,271	-,087
									,675	,277	,731
Doku TNF- α									1	,773**	,762**
										,000	,000
Doku TGF- β										1	,438
											,069
Doku Fract											1

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, Pearson korelasyon

K Grubu Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Korelasyon Analizleri

K grubu tüm ağız klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde; Gi - CD ($r=0,755$), Gi - SK ($r=0,998$) arasında pozitif yönde kuvvetli ilişki tespit edilmiştir.

K grubu örneklem bölgesi klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde Gi - SK ($r=1,00$) arasında pozitif yönde çok güçlü korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

DOS ve doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyelerinin klinik parametreler ile korelasyon verileri incelendiğinde; Doku fraktalkin seviyesi ile K grubu örneklem bölgesi Pİ değerleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon olduğu görülmüştür ($r=0,643$), ($p<0,05$).

DOS ve doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyelerinin grup içi korelasyon değerleri incelendiğinde K grubunda; DOS' da TNF- α - TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,728$) pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir. Dokuda TNF- α -TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,984$), TNF- α - Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,850$), TGF- β - Fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir ($r=0,833$) ($p<0,05$).

K grubu tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri Çizelge 4.11' de sunuldu.

Çizelge 4.11. K grubu tüm ağız klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

K	plak indeksi	gingival indeks	cep derinliği	sond.kanama	DBİ	DOS TNF-α	DOS TGF -β	DOS Fract	Doku TNF-α	Doku TGF-β	Doku Fract
plak indeksi	1	,462 ,179	,375 ,286	,444 ^a ,199		-,100 ,782	-,444 ,199	-,268 ,453	,105 ,773	,101 ,781	,347 ,325
gingival indeks		1	,755* ,012	,998** ,000	^a	,460 ,181	,041 ,911	,329 ,353	,141 ,698	,062 ,865	,036 ,922
cep derinliği			1	,765** ,010	^a	,246 ,494	-,020 ,955	,236 ,511	-,185 ,609	-,244 ,498	-,130 ,720
sond.kanama				1 ^a	^a	,481 ,159	,053 ,885	,343 ,331	,133 ,714	,052 ,888	,045 ,901
DBİ					^a	^a	^a	^a	^a	^a	^a
DOS TNF-α						1	,728* ,017	,534 ,112	,123 ,735	,108 ,767	,109 ,764
DOS TGF -β							1	,390 ,265	-,300 ,400	-,297 ,404	-,332 ,349
DOS Fract								1	-,225 ,533	-,243 ,499	-,309 ,384
Doku TNF-α									1	,984** ,000	,850** ,002
Doku TGF-β										1	,833** ,003
Doku Fract											1

a.Değişkenlerden en az biri sabit olduğu için hesaplanamaz,*: p< 0.05,**: p <0.01, Pearson korelasyon

K grubu örneklem bölgesi klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri Çizelge 4.12’ de sunuldu.

Çizelge 4.12. K grubu örneklem bölgesi klinik ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

K örneklem bölgesi	Plak indeksi	Gingival indeks	Cep derinliği	Sond. kanama	DBİ	DOS TNF-α	DOS TGF-β	DOS Fract	Doku TNF-α	Doku TGF-β	Doku Fract
Plak indeksi	1	-,018 ,960	,258 ,472	-,018 ,960	^a .	-,126 ,729	-,504 ,137	-,277 ,438	,480 ,160	,505 ,137	,643 [*] ,045
Gingival indeks		1	,471 ,170	1,000^{**} ,000	^a .	,622 ,055	,329 ,353	-,012 ,974	,536 ,110	,539 ,108	,350 ,321
Cep derinliği			1	,470 ,170	^a .	,396 ,258	-,114 ,754	,261 ,467	,536 ,110	,474 ,167	,285 ,425
Sond. Kanama				1	^a .	,622 ,055	,331 ,351	-,014 ,969	,536 ,110	,538 ,108	,351 ,320
DBİ	^a .			^a .	^a .	^a .	^a .	^a .	^a .	^a .	^a .
DOS TNF-α					^a .	1	,728[*] ,017	,534 ,112	,123 ,735	,108 ,767	,109 ,764
DOS TGF-β					^a .		1	,390 ,265	-,300 ,400	-,297 ,404	-,332 ,349
DOS Fract					^a .			1	-,225 ,533	-,243 ,499	-,309 ,384
DokuTNF-α					^a .				1	,984^{**} ,000	,850^{**} ,002
Doku TGF-β					^a .					1	,833^{**} ,003
Doku Fract					^a .						1

a.Değişkenlerden en az biri sabit olduğu için hesaplanamaz, *: p< 0.05, **: p<0.01, Pearson korelasyon

P,İ ve K gruplarında DOS ve doku örneklerinde TNF-α, TGF-β, Fraktalkin seviyelerinin birbirleriyle olan korelasyon değerleri incelendiğinde;her üç grupta da DOS TNF-α ile doku TNF-α seviyesi arasında; DOS TGF-β ile doku TGF-β seviyesi arasında; DOS Fraktalkin ile doku Fraktalkin seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı (p>0,05).

5. TARTIŞMA

Periodontal enflamasyon gelişiminde birincil etiyolojik faktörlerden biri olan bakteriyel biyofilm, sulkusu ve periodontal cepleri kolonize eden ve diş eti dokularında enflamasyonu başlatan, gingivitis ve periodontitise yol açan birkaç yüz bakteri türüne sahiptir. Bu bakteriler, periodontal dokuları doğrudan yok eden veya konakçı hücreleri çok çeşitli enflamatuvar tepkileri başlatmak için uyaran bir dizi yapısal bileşene sahiptir. Bu enflamatuvar yanıtların mikrobiyal zorluğun üstesinden gelmesi öngörülmektedir, ancak doku tahribatından da sıklıkla sorumludurlar. Dişeti büyümesi sırasında dişeti morfolojisindeki değişiklikler, enflamasyonu uyaran mikrobiyal dental plağın tutulmasına yol açarlar [3]. Moleküler düzeyde, fibrojenik ve rejeneratif sinyallerin düzenlenmesine katkıda bulunan dişeti enflamasyonu sonrasında fazla mediatör salınır [3]. Hücresel olaylarda büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin önemini anlamak, kanser, nörolojik bozukluklar, AIDS ve fibrotik bozukluklar dahil birçok hastalığın arkasındaki bilinmeyen mekanizmaları aydınlatmıştır. İlaça bağlı dişeti büyümesinin fibrotik bir bozukluk olarak altında yatan patogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Matris metaloproteinazların, fibroblast genetiğinin ve büyüme faktörleri/sitokinler olmak üzere birçok olası mekanizmanın rolü olduğu düşünülmektedir [276].

Günümüze kadar yaş, cinsiyet, ilaçlar, genetik faktörler ve periodontal durum gibi birçok faktörün dişeti büyümesinin gelişmesi ile ilgili olduğu belirtilmiştir [3]. Çalışmaların çoğu dişeti dokularının hücrelerine ve hücre dışı bileşenlerine odaklanmıştır. Sitokinler ve büyüme faktörlerinin hücre dışı matris sentezinde çok önemli bir rolü vardır. Ayrıca, hücre proliferasyonunu ve bağ dokusunda farklılaşmayı etkileyebilirler. Büyümüş dişeti dokularında artmış IL-6, FGF2, IL-1 β , PDGF-B, TGF- β ve CTGF seviyeleri görülmüştür [8, 277]. Sitokin profillerindeki değişikliklere ek olarak enflamatuvar hücre popülasyonlarında da farklılıklar bulunmuştur. Araştırmalar, hücre popülasyonlarındaki değişikliklerin ve sitokin seviyelerinin dişeti dokusu yanıtını etkilediğini ve dişeti büyüme mekanizmasına katkıda bulunabileceğini göstermektedir [278, 279].

Fraktalkin ve CX3CR1, tanımlanmış 50' den fazla kemokin arasında benzersiz özellikler sunan, kemotaktik aktivitesinin yanı sıra, farklı bir moleküler yapıya sahip olan ve bağışıklık

sistemi hücrelerinin vasküler endotelden enflamasyon bölgesine daha kolay nüfuz etmesini kolaylaştıran bir adezyon molekülü olarak işlev görebilen tek kemokindir [12, 13]. Yapılan çalışmalar CX3C kemokin alt ailesinin eşsiz üyesi olan fraktalkinin farklı kanser türlerinin patogenezinde ve ateroskleroz, glomerülonefrit, romatoid artrit, HIV hastalığı ve sepsis gibi çeşitli klinik hastalık durumlarında rol oynadığını göstermiştir [14-17]. Yapılan literatür incelemesi sonucunda, bir çalışmada periodontitiste dokudaki lökositlerin CX3CR1' i eksprese ettiği ve ligand kemokin fraktalkinin periodontitisli hastalarda dokulardaki endotel hücrelerinde güçlü bir şekilde eksprese edildiği gösterilmiştir. Yine bir diğer çalışmada ise fraktalkin ve CX3CR1' in periapikal lezyonların gelişimiyle ilişkili olduğu, kemokin ve reseptörünün periapikal enflamasyon sırasında kemik rezorpsiyonu da dahil olmak üzere doku tahribatının ilerlemesinde rol oynayabileceği bildirilmiştir. Fraktalkinin farklı hastalıklarla ilişkisi ortaya konmuş ancak periodontal dokularla olan ilişkisi değerlendirilmemiştir. Bu çalışmada periodontal hastalıkla benzer hastalık patogenezinine sahip çeşitli sistemik hastalıklarda rol oynadığı açık bir şekilde gösterilen fraktalkinin periodontal dokulardaki varlığını değerlendirmek amaçlanmıştır. Bu amaçla plağa ve ilaç (amlodipine) kullanımına bağlı dişeti büyümesi olan bireylerde fraktalkinin yine periodontal hastalıklarda rol oynadığı kanıtlanmış TNF- α , TGF- β ile ilişkisini inceleyerek periodontal hastalık patogenezindeki rolünü ortaya koymak hedeflenmiştir.

Araştırmaya başlamadan önce istatistiksel güç analizi yapılmış; bu analize göre çalışmanın gücü % 80 olarak belirlenmiş ve toplam örneklem büyüklüğü Plak grubu 17, ilaç grubu (amlodipine) 18 ve Kontrol grubu 10 olmak üzere 45 kişi olarak planlanmıştır.

Çalışmamızda 18 yaşından büyük, maksiller/mandibular anterior dişler bölgesinde dişeti büyüme indeksine göre 2. ve 3. derece dişeti büyümesi bulunan, ağızda mevcut dişler çevresinde radyografik olarak alveoler kemik kaybı gözlenmeyen, yara yeri iyileşmesini etkileyen herhangi bir sistemik rahatsızlığı olmayan (diabetes mellitus, vb) bireylerin dahil edilmesi sağlanarak, hastaya ait faktörler standardize edilmiştir. Periodontal hastalıklarda sağlıklı durumdan enfeksiyona geçerken nötrofiller, T hücreleri, lenfositler ve makrofajlar görev yapmaktadır [280]. Periodontal lezyon genişledikçe konak hücreleri olan fibroblast, epitel, endotel hücreleri de doku yıkımına neden olan sitokinlerin ve enzimlerin salgılanmasını artırırlar. Aktive olan makrofajlar ve fibroblastlardan salınan PGE2, IL-1 β , IL-

6 ve TNF- α sitokinleri alveolar kemik yıkımına yol açarlar [281]. Gingivitis ve periodontitiste sitokin profilindeki farklılıklar nedeniyle büyümeye etki eden sitokinleri değerlendirebilmek amacıyla çalışmamızda örnek alınan bölgelerde kemik yıkımı olmamasına dikkat edilerek periodontitis teşhisi konulmuş kişiler çalışma dışı tutulmuştur. Çalışmamıza katılan amlodipine bağlı büyüme gözlenen hastaların en az 6 ay süre ile ve günlük en az 5 mg dozda amlodipin kullanmalarına dikkat edilmiştir.

Çalışmamızda ilk seansta klinik indeks ölçümlerini yaparak, ağız hijyeni talimatlarını verdik ve ikinci seansta DOS ve doku örneklerini aldık. Bu nedenle çalışma yöntemimiz, tüm çalışma gruplarında lokal faktörlerin sitokin düzeyleri üzerindeki etkisini azaltmakla kalmayıp, olası plak kontaminasyonu ve kanamayı azaltarak örnek toplamayı da kolaylaştırmıştır.

Hastaların periodontal sağlık durumunu belirlemek amacıyla klinik periodontal indeksler kullanılmıştır (Pİ, Gİ, CD, SK, DBİ, KAS). Araştırmaya dahil edilen tüm bireylerin klinik parametreleri Williams periodontal sondu kullanılarak ölçülmüştür. 1960' lardan günümüze kadar kullanımda olan Silness-Löe plak indeksi [272], Löe-Silness gingival indeksi [273] skorlarının, bireylerin oral hijyen ve dişeti enflamasyon durumlarının tespitinde kullanılabilen etkili bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır [282]. Ainamo ve Bay' ın hastalık aktivitesini gösteren SK indeksinden [274] yararlanılmıştır. SK indeksi, aktif enflamasyonun teşhisi için sıklıkla kullanılan pratik yöntemlerden biridir [283]. Kullanılan bu indeksler diğer dişeti büyüme çalışmalarında da yaygın olarak kullanılmaktadır [85, 284]. Literatürle uyumlu şekilde çalışmamızda bu indekslerin kullanımı tercih edilmiştir. Dişetinde var olan büyümelerin değerlendirilmesi için kullanılan bir çok farklı indeks sistemi bulunmaktadır. Dişetinin büyümelerini değerlendirmek için çok sayıda yaklaşım olmasına rağmen, kullanımı kolay, invaziv olmayan ve hasta başı klinik değerlendirme için uygun olan bir yöntemin seçimi önemli bir husustur[27]. Çalışmamızda dişeti büyümelerini değerlendirmek için yeterli veri sağlayan Angelepoulos ve Goaz tarafından yapılan, Miller ve Damm tarafından geliştirilen dişeti büyüme indeksi sistemini tercih edilmiştir [269, 270]. Farklı araştırmacılar tarafından yapılan ölçümlerin sonuçları etkileyebilmesi nedeniyle, çalışmamızdaki tüm ölçümler aynı araştırmacı tarafından kaydedilmiştir.

Periodontal hastalıklarda doku cevabı ve potansiyel biyobelirteçler farklı vücut sıvılarında değerlendirilebilir. Ağızda bulunan farklı dişlerden ve bu dişlerin farklı bölgelerinden DOS toplanabilir ve akut enflamasyon, humoral ve hücrel immün cevap mediatörleri açısından analiz edilebilir. Periodontal hastalıkların başladığı dokulardan kaynaklanması ve bu dokulara yakın olması nedeniyle, DOS içeriğinde mevcut olan biyobelirteçlerin, hastalıkların erken teşhisinde ve bireysel risk belirlenmesinde, tükürük ve kan analizlerinden daha avantajlı olduğu bildirilmiştir [285, 286]. DOS elde edilmesi, invaziv olmayan, tekrar edilebilirliği mümkün ve basit bir yöntemdir [248]. Literatürde 3 tip DOS toplama yöntemi mevcuttur. Bunlar; tüp yöntemi (mikropipetler), dişeti oluğu yıkama yöntemi (gingival washing) ve kağıt şerit yöntemidir [260]. Günümüzde tüp yöntemi ve dişeti oluğu yıkama yönteminin zorluğu nedeniyle, çalışmalarda en çok kullanılan DOS toplama yöntemi periodontal oluk içine yerleştirilen kağıt şerit yöntemidir. Bizim çalışmamızda da uygulanmasının pratik olması, mediatörlerin tespitine yardımcı olacak miktarda DOS toplayabilmesi, en az travmatik metot olarak bilinmesi, tükürük izolasyonunun daha kolay sağlanması, hasta tarafından kabul edilebilir olması ve literatürde daha sık kullanılması nedeni ile kağıt şerit yöntemi tercih edilmiştir [251].

Klinik pratikte birçok vücut sıvısının değerlendirilmesi konsantrasyon hesaplamasına göre yapılmaktadır [287]. Dişeti oluğu sıvısı enzim düzeylerinin konsantrasyon olarak hesaplanmasında toplanan sıvının birim hacmindeki enzim miktarı değerlendirilmektedir [288]. Toplanan bu sıvı miktarının ölçülmesinde periotron cihazı gibi elektronik hacim ölçerler kullanılmasına karşın, cihaz ile ilgili limitasyonlar ve buharlaşmaya bağlı sıvı kaybı gibi faktörler hacim hesaplamasını etkileyebilmektedir [251, 289]. Ayrıca, toplanan sıvı hacminin enflamasyon şiddeti ile artması da konsantrasyon düzeylerinin daha düşük düzeyde hesaplanmasına neden olabilmektedir [290]. DOS enzim düzeylerinin konsantrasyon olarak hesaplaması ve değerlendirilmesi çalışmaların en önemli limitasyonları olarak değerlendirilmektedir. Diğer sistemik hastalıklarda plazma, sinoviyal sıvı gibi fazla miktarda elde edilebilecek vücut sıvılarında birim konsantrasyon değerleri ile çalışmalar yapılmıştır [17, 291]. Mevcut bilgilerimize göre çalışmamız dişeti büyümesinde DOS' da fraktalkin seviyelerinin incelendiği literatürdeki ilk çalışmadır.

DOS' ta, gingival marjinden toplanan eksüdalarda ve periodontitisli hastalardan alınan dişeti dokusunda çok sayıda sitokin ve kemokin tespit edilmiştir [255, 292]. Dişeti epitel dokularındaki ana hücre tipi olan oral keratinositler, çeşitli proinflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri eksprese edebilir. Patogeneze ilgili histolojik çalışmalar oral keratinositlerin, interlökin-1alfa, interlökin-1beta, interlökin-6, interlökin-8 dahil olmak üzere çeşitli proinflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri eksprese ettiğini ortaya koymuştur [293]. Erken dönemde bu enflamatuvar markırların dokuda tespit edilmesi daha kolaydır. Bu nedenle çalışmamıza dahil edilen bireylerde dişeti büyümesi mevcut olan bölgelerde sitokinlerin varlığını ve doku seviyelerini tespit edebilmek amacıyla gingival doku örnekleri alınmıştır. Literatürde ortaya konulduğu şekilde lokal infiltrasyon anestezisi yapılarak, insizyonlar dişeti marjini, sulkular epitel ve gingival bağ dokusunu içerecek ve 1-2 mm subgingival olacak şekilde 15 no' lu bistüri ile yapılarak, her hastadan 1 doku örneği elde edilmiştir [275].

Periodontal ve peri-implant dokulardaki biyolojik belirteçlerin tespitinde PCR, ELİSA, Western Blot gibi alternatif yöntemler kullanılabilir. ELISA yöntemi hormon, ilaç düzeyi, tümör işaretlerinin tayininde ve sitokin seviyelerinin belirlenmesinde kullanılabilen bir immunolojik testir [294]. Çalışmamızda biyokimyasal verilerin analizinde antijen-antikor ilişkisini, antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini araştırmak temeline dayanan ve kantitatif ölçüm yöntemi olan ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi kullanıldı. ELISA metodu; diğer immunohistokimyasal yöntemlere göre daha pratiktir ve daha objektif veriler elde edilmesini sağlar. Nitekim, bu mediatörlerin bazıları için tutarsız sonuçlar elde edilmesine rağmen DOS ve tükürükteki mediatörlerin kantitatif analizinde kullanılan ELISA yöntemi; hala "altın standart" tır [295]. ELISA yönteminin direkt, indirekt, kompetitif ve sandviç ELISA gibi farklı şekilleri vardır ve yüksek hassasiyet göstermesi nedeniyle en sık tercih edileni, sandviç ELISA yöntemidir [294]. Çalışmamızda da DOS' taki sitokinlerin düzeylerini tespit etmek amacıyla sandviç ELİSA yöntemi tercih edilmiştir.

Periodontal ve peri-implant hastalıkların mekanizmasını araştıran çalışmalarda da DOS, peri-implant oluğu sıvısı, kan ve doku örneklerindeki gen ekspresyonlarını tanımlamak için sıklıkla PCR tekniği kullanılmaktadır [296-298]. PCR metodu diğer geleneksel ölçüm yöntemlerine göre, çoğalmı eş zamanlı olarak monitörize edebilmesi, daha hassas, hızlı ve

verimli bir yöntem olması nedeniyle tercih edilmektedir [299]. Bu nedenle çalışmamızda sitokinlerin doku seviyelerinin tespitinde PCR ile analiz yöntemi tercih edilmiştir.

Çalışmamızda güvenilir sonuçlar elde edebilmek için her bir örnek 2' şer kuyucuk olacak şekilde çalışılmış, bu 2 kuyucuk değerlerinin ortalaması alınarak hesaplama yapılmıştır.

Çalışmamızda amlodipin kullanan bireylerin ortalama yaşı sistemik olarak sağlıklı diğer iki gruba göre anlamlı olarak daha yüksektir. Bu bulgu, yaşla birlikte sistemik hastalıkların arttığını doğrulamaktadır.

İBDB için cinsiyet farklılığı olmamasına rağmen, KKB ile indüklenen dişeti büyüme prevalansının erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir [300]. Ancak çalışmamıza katılan grupların cinsiyet dağılımları incelendiğinde çalışmaya katılanların %71,1' ini kadın (n:32), %28,9' nu ise erkek (n:13) bireyler oluşturmuştur. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına göre olduğu ve dahil edilme kriterlerine uygun seçim yapıldığı için çalışmada daha fazla sayıda kadın katılımcı vardır. Gruplar arasında cinsiyet dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

İlaca bağlı olarak gelişen dişeti büyümelerinin oluşum mekanizmalarını inceleyen çalışmalarda, bakteriyel plak kaynaklı enflamasyonun dişeti büyümelerinin patogeneğinde rol oynadığı ve plak varlığı ile beraber dişeti büyüme şiddetinin arttığı bildirilmiştir [5, 72, 92, 103]. Yapılan pek çok çalışmada dental profilaksi ve başarılı bir oral hijyenin büyümenin ortaya çıkmasını engellediği veya şiddetini azalttığı sonucuna varılmıştır [3, 301, 302].

İlaca bağlı dişeti büyümesinin başlaması için önceden var olan dişeti enflamasyonunun önemli olduğunu ve dikkatli plak kontrolünün bu tip büyümelerin önlenmesinde etkili olabildiğini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur.

Heijl ve Sundin çalışmalarında; nitrendipin verilen köpeklerde hiperplastik değişikliklerin enflamasyon belirtileri gösteren alanlarda başlamasına rağmen sağlıklı bölgelerde başlamadığını göstermişlerdir [303]. Çalışmalarda dişsiz bölgelerde büyüme gözlenmemiştir. Ancak dental implantların etrafında da nifedipinle ilişkili dişeti büyümesi rapor edilmiştir [2]. Kesitsel çalışmalar bakteriyel plak ile ABDB arasındaki ilişkide benzer

şekilde ortaya konmuştur. ABDB bakteriyel plak birikimini destekleyebilir, bu da dişeti enflamasyonuna ve dişeti büyümesine neden olmaktadır [66].

Periodontopatik bakterilerin neden olduğu gingival enflamasyon dişeti büyümesi oluşum riskini artırır [304, 305]. Nifedipin ve bakteriyel lipopolisakkarit arasındaki etkileşim KKB' ne bağlı dişeti büyümesine katkıda bulunabilir [306].

Banthia ve diğerleri 2014 yılında amlodipin kullanan 99 hastada periodontal sağlık ile dişeti büyümesinin başlangıcı ve şiddeti arasındaki ilişkiyi araştırmış ve değerlendirmiştir. 8.46 ± 2.33 mg / gün amlodipin alan yaklaşık 68 hastada < 5 yıllık tedavide dişeti büyümesi gelişmiştir. Ayrıca periodontal sağlık ile amlodipine bağlı dişeti büyümesinin şiddeti arasında güçlü bir ilişki görülmüştür [138].

Gopal ve diğerleri 2015 yılında, KKB kullanımına bağlı gelişen dişeti büyümesinde prevalans ve risk faktörlerini belirlemek için kesitsel bir çalışma yapmışlardır. Değerlendirilen 133 denekten 102' si amlodipin kullanmış ve bunlar arasında yaklaşık 32 denekte dişeti büyümesi geliştiği gözlenmiştir. Anti-hipertansif kullanan hastalarda zayıf ağız hijyeni olduğu ve dişeti enflamasyonunun İBDB gelişimini desteklediği öne sürülmüştür [307].

Kalsiyum kanal blokörü kullanımına bağlı gelişen dişeti büyümeleri ile ilgili yapılan bir çok çalışmada dişeti büyümesi ve dişeti iltihabı arasında belirgin korelasyon tespit edilmiştir [7, 86, 103]. Miranda ve diğerleri, nifedipin kullanan hastalarda dişeti büyüme sıklığını inceledikleri çalışmalarında, nifedipin kullanan ve kullanmayan hastaları gingival indeks, plak indeksi, sondlama derinliği ve dişeti büyümesi yönünden karşılaştırmışlardır. Çalışma sonuçlarında, nifedipin tedavisi gören hastalarda dişeti büyümesi görülme sıklığının, kontrol grubuna göre belirgin oranda yüksek olduğunu ve plak ve gingival indeks değerlerinin de arttığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar olası risk faktörleri içerisinde sadece gingival indeks ile dişeti büyümesi arasında belirgin bir ilişkinin olduğunu ve gingivitisin predispozan faktör olarak rol aldığını belirlemişlerdir [271].

Güncü ve diğerleri, fenitoin ve nifedipin kullanan hastalarda, dişeti büyümesi olanlar ve olmayanlar arasında plak indeksi, gingival indeks ve kanama zamanı indeksi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlememişlerdir [85].

Benzer şekilde çalışmamızda plak, gingival, CD, SK ve dişeti büyüme indeksleri dahil olmak üzere beklendiği gibi klinik parametreler, büyüme gruplarında kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksektir. Plak akümüasyonu dişeti büyümelerini tetikleyebilir. Çalışmamızda tüm ağız Pİ, Gİ, CD, SK ve DBİ skorları açısından P, İ ve K grupları değerlendirildiğinde; P ve İ gruplarına ait Pİ, Gİ, CD, SK, DBİ değerleri ortalaması K grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p>0,05$). Tüm ağız; Pİ değerleri ortalamaları P ($1,54 \pm 0,48$) ve İ ($1,30 \pm 0,43$) gruplarında K ($0,67 \pm 0,44$) grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek, Gİ değerleri ortalamaları P ($1,21 \pm 0,42$) ve İ ($1,06 \pm 0,50$) gruplarında K ($0,51 \pm 0,35$) grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek, sondlamada CD ortalaması P ($2,67 \pm 0,52$) ve İ ($3,06 \pm 0,62$) gruplarında K ($2,12 \pm 0,39$) grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek, SK yüzdesi ortalaması P ($61,32 \pm 20,94$) ve İ ($54,11 \pm 26,83$) gruplarında K ($25,01 \pm 19,74$) grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek, DBİ ortalamaları P ($1,65 \pm 0,27$) ve İ ($1,49 \pm 0,34$) gruplarında büyüme gözlenmeyen K ($0,00 \pm 0,00$) grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p>0,05$).

Çalışmamızda tüm ağız klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde plağa bağlı dişeti büyümesi gözlenen grupta Pİ - Gİ ($r=0,640$), Gİ - SK ($r=0,836$), Pİ - SK ($r=0,576$) arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon saptandı, SK - DBİ ($r= -0,609$), Pİ - DBİ ($r=-0,563$), Gİ - DBİ ($r= -0,538$) arasında negatif yönde güçlü korelasyon tespit edildi ($p<0.05$), İ grubunda Pİ - SK ($r=0,618$), Pİ - Gİ ($r=0,588$), Gİ - SK ($r=0,995$) arasında pozitif yönde güçlü korelasyon tespit edildi, K grubunda Gİ - CD ($r=0,755$), Gİ - SK ($r=0,998$) arasında pozitif yönde kuvvetli ilişki tespit edilmiştir. Hemen hemen tüm çalışmalarda zayıf plak kontrolü bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Bu dişeti büyümesinin rutin oral hijyen önlemlerini engellediğini öneren önceki çalışmalarla uyumludur[3]. ABDB rutin oral hijyen önlemlerini engelleyerek ek olarak, dişeti enflamasyonuna ve dişeti büyümesine neden olan bakteri plaklarının birikmesini destekleyebilir [308].

Hayvan ve insan modelleri, plak aracılı enflamatuvar değişikliklerin, ilaca bağlı dişeti büyümesinin patogenezinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir [309, 310]. İlaç, hücre sinyalini azaltarak, dişeti dokularındaki enflamatuvar yanıtı değiştirerek ve bakteri istilası ve proliferasyonunu destekleyerek dişeti fibrozunun patogenezinde önemli bir faktör olabilir. Mikrobiyal biyofilmin ortadan kaldırılması, ilaca bağlı dişeti büyümesi olan

hastaların gingival dokularının bağ dokusu bileşiminde enflamatuar infiltratın azalmasına ve değişmesine neden olmuştur [311]. Çalışmamızda P ve İ gruplarında benzer sonuçlara varma nedemiz DOS ve doku örneklerinin hastaların 1 hafta oral hijyen uygulamalarını takiben alınması olabilir. Literatür verileriyle uyumlu şekilde çalışmamıza katılan bireylerin örneklem bölgesi Pİ değerleri P-İ, P-K, İ-K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı tespit edilmiştir. Pİ ortalamasının P ($1,91 \pm 0,71$) grubunda İ ($1,21 \pm 0,53$) ve K ($0,56 \pm 0,46$) gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır. Yine İ grubu Pİ ortalaması K grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir.

Örneklem bölgesi; P ve İ gruplarına ait Gİ, CD, SK, DBİ değerleri ortalaması K grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiştir ($p>0,05$). Örneklem bölgesi Gİ ortalaması P ($1,75 \pm 0,58$) ve İ ($1,46 \pm 0,56$) gruplarında K ($0,82 \pm 0,70$) grubuna göre, sondlamada CD ortalaması P ($3,25 \pm 0,73$) ve İ ($3,54 \pm 0,91$) gruplarında K ($2,49 \pm 0,44$) grubuna göre, SK yüzdesi ortalaması P ($82,24 \pm 25,50$) ve İ ($72,11 \pm 29,08$) gruplarında K ($41,20 \pm 35,38$) grubuna göre, DBİ ortalaması P ($2,08 \pm 0,40$) ve İ ($1,77 \pm 0,49$) gruplarında K ($0,00 \pm 0,00$) grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.

Örneklem bölgesi klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde P grubunda Gİ - SK ($r=0,904$) arasında pozitif yönde çok güçlü korelasyon bulundu, İ grubunda; Pİ - Gİ ($r=0,496$) orta derecede, Pİ - SK ($r=0,485$) orta derecede, Gİ - SK ($r=0,989$) çok güçlü, CD ile DBİ ($r=0,539$) arasında pozitif yönde orta derecede korelasyon saptandı, K grubunda ise Gİ - SK ($r=1,00$) arasında pozitif yönde çok güçlü korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Gingival indeks ve sondlamada kanama indeksi enflamatuar durumun düzeyini gösteren klinik parametrelerdir, P ve İ grubunda enflamatuar komponentten dolayı bu indekslerde artış gözlenmiştir.

Doku TGF- β seviyesi ile İ grubu örneklem bölgesi Gİ değerleri arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu görülmüştür ($r=-0,487$) ($p<0,05$).

Doku fraktalkin seviyesi ile K grubu örneklem bölgesi Pİ değerleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon olduğu görülmüştür ($r=0,643$), ($p<0,05$).

Doku TNF - α seviyesi ile P grubu örneklem bölgesi DBİ arasında negatif yönde orta derecede bir korelasyon olduğu görülmüştür ($r = -0,532$) ($p < 0,05$).

ABDB, bir eşik amlodipin konsantrasyonu ile uyarılmalıdır. Dişeti fibroblastlarını “aktif etmek” için ilacın veya metabolitinin belirli bir eşik konsantrasyonunun gerekli olduğu varsayılmıştır [91]. Bununla birlikte, ABDB’ nin şiddetinin oral sıvılardaki amlodipin konsantrasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [91]. Olguların çoğunda ABDB’ ye neden olduğu bildirilen ortalama amlodipin dozu 5 mg/ gündür. Dişeti büyümesine neden olan en düşük ilaç dozu, bir çalışmada [105] 2.5 mg/gün iken, 10 mg/gün dozajı, hızlı büyümeye neden olmuştur [7]. Bu nedenle, amlodipinin dozajının ve süresinin ABDB üzerinde bir etkisi olabileceği bildirilmiştir [91]. Genellikle ABDB’ nin klinik belirtileri ilaç uygulamasının ilk üç ayında ortaya çıkmaktadır [308]. Daha uzun bir tedavi süresi, hücrelerin amlodipine maruziyetini artırabilir ve bu, hücrelerin apoptozunu değiştirerek hiperplazi ile sonuçlanabilir [308]. Benzer şekilde bizimde çalışmamızda da amlodipin kullanımına bağlı büyüme grubunda 5mg/gün amlodipin dozunun 6 aylık kullanımı sonucunda büyümeye neden olduğunu gözlemledik.

Dişeti büyümesinin şiddeti ile doza bağlı korelasyonlar zayıftır, ancak genel olarak ilaç kullanımının azalması, dişeti patolojisinin şiddetinin azalmasına neden olur. Örneğin, fenitoinin büyüme insidansı ile herhangi bir korelasyon olmaksızın DOS’ a yayıldığı bildirilirken [312], büyüme ile fenitoin ve metabolitlerin konsantrasyonları arasında doğrudan bir bağlantı gösterilmemiştir [313]. Bahsedilen çalışmaya benzer şekilde çalışmamızda günlük 5mg amlodipin kullanan I grubunda amlodipin kullanım süresi ve dozu ile tüm klinik parametreler ve DOS ve doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

Kemokinlere atfedilen hücresel fonksiyonların çeşitliliği çok geniştir ve adezyon, proliferasyon, hayatta kalma, anjiyogenez ve proinflamatuvar gen ekspresyonunun düzenlenmesi dahil olmak üzere artmaktadır. Ek olarak kemokin reseptör ekspresyonu, hem homeostatik hem de enflamatuvar koşullar altında incelenen hemen hemen her hücre tipi için tarif edilmiştir. Kemokin ve kemokin reseptör ekspresyonunun düzensizliği,

kardiyovasküler hastalık, kanser, nörodejeneratif hastalık ve romatoid artrit ve sistemik lupus eritematoz gibi sistemik enflamatuvar hastalık ile ilişkili bulunmuştur [314].

Kalsiyum kanal blokörleri arasında, üçüncü nesil bir ajan olan amlodipin sıklıkla reçete edilmektedir. Tek başına veya kombinasyon terapisinde kullanılabilir. Bu ilaçlar genellikle yaşam boyu uygulama gerektirmekte ve hastaları dişeti büyümeleri gibi olumsuz oral reaksiyonlar da dahil olmak üzere çeşitli yan etkilere maruz bırakabilmektedir [140]. Yaş, genetik, ilaç değişkenleri ve mevcut dişeti enflamasyonları gibi etkenlerin tamamının, dişetinin bu ilaçlara verdiği yanıtta etki gösterdiği bildirilmiştir [3]. Bu etkenler dişetinde lokalize veya generalize büyümelere neden olur, bu büyümeler daha sonra bireyler tarafından gerçekleştirilmesi gereken rutin oral hijyen uygulamalarını engelleyerek, bakteriyel plak birikimini ve enflamasyonu tetikler. Böylece bir kısır döngü gelişir; bu döngü de çiğneme fonksiyonu ve estetiği zorlaştıran, kalıcı büyümelere neden olur [140].

Yapılan çalışmalarda ilaca bağlı büyümenin geliştiği dokularda bazı sitokinlerin anormal artmış miktarları tespit edilmiştir. İlaç kullanımına bağlı gelişen dişeti büyümelerinde artmış miktarları belirlenen sitokin ve büyüme faktörleri; IL-6, IL-1 β , PDGF- β , FGF-2, TGF- β ve CTGF olarak bildirilmiştir [8-11]. Bu bilgiler büyüme patogenezinin farklı bir boyut getirmiş ve büyümeye sebep olan maddelerin bu olayı dişeti dokusundaki sitokinlerin normal balansını değiştirerek neden olabileceği düşüncesini ortaya çıkarmıştır [6].

TNF- α , güçlü proinflatuvar etkilere sahip pleiotropik bir sitokindir ve ateroskleroz, obezite ve RA gibi diğer metabolik ve enflamatuvar bozukluklarda rol oynar. TNF- α 'nın fraktalkin ekspresyonunu önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir [204, 215]. İnsan umbilikal ven endotel hücrelerinde (HUVEC'ler) TNF- α uyarımı ile büyük oranda artmış fraktalkin mRNA ekspresyonu gösterilmiştir. TNF- α kaynaklı fraktalkin ekspresyonunda elde edilen sinyal yollarının değerlendirilmesinde öncelikle enflamatar yanıtlarda rol oynayan yüksek oranda düzenlenmiş transkripsiyon faktörü NF- κ B'nin ekspresyonu vasıtasıyla aracılık edilmektedir [215, 216]. Çalışmamızda DOS'da P grubunda TNF- α ile Fraktalkine seviyeleri arasında ($r=0,745$) ve dokuda yine P grubunda TNF- α ile Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,689$) pozitif yönde güçlü korelasyon gözlenmesi TNF- α 'nın fraktalkin indükleyicisi olduğu bilgisini destekler niteliktedir.

Subramani ve diğerkleri kronik periodontitis ve CsA' ya bağılı dişeti büyüme gözlenen hastalardan ve sağılıklı bireylerden aldıkları dişeti doku örneklerinde TNF- α ve RANTES' in mRNA ekspresyonunu değerlendirmek için toplam RNA izole edilerek ve RT-PCR kullanarak yaptıkları çalışma sonucunda CsA' ya bağılı dişeti büyümesi görülen dokuların kontrol ve kronik periodontitis örneklerine kıyasla önemli ölçüde artmış TNF-a ve RANTES eksprese ettiğini ortaya koymuşlardır [315].

TNF - α ' nın DOS' ta periodontal hastalığın olası indikatörü olarak kullanılma düşüncesi ilk olarak Rossomando tarafından değerlendirilmiştir [185]. Takip edilen süreçte ise periodontal hastalıkta yıkım parametresi olarak literatürde en çok değerlendirilen sitokinlerden biri olmuştur. Klinik çalışmalarda DOS' da, gingival dokularda, plazma ve serumda TNF- α ' nın periodontal hastalıkta arttığı gösterilmiştir [316, 317].

Çalışmamızda TNF- α DOS seviyeleri gruplar arası analiz edilmiştir. DOS' da birim konsantrasyonda örneklem bölgesi TNF- α seviyesinin, P grubunda $22,55 \pm 8,29$ ng/ml, İ grubunda $18,76 \pm 4,27$, K grubunda $26,91 \pm 8,72$ ng/ml olduğu belirlendi. Çalışma grupları arasında DOS TNF- α seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık tespit edilmiştir. İ grubu DOS TNF- α seviyesi K grubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Sınırlı sayıda çalışma sitokin ekspresyonlarını aynı anda hem dişeti dokusunda hem de vücut sıvılarında (örneğin DOS ve serum) değerlendirmiştir. Lomba ve diğerkleri kronik periodontitis hastalarında aynı bölgeden minimal invaziv dişeti biyopsileri ve DOS örnekleri elde ederek sitokin ekspresyonlarında uyum miktarını değerlendirmişlerdir [318]. Sitokin düzeylerinin DOS ve doku düzeyleri arasındaki farklılığı, bir sitokinin dokudaki reseptörüne bağlanması veya dış ortamda sitokin tüketimi gibi fizyolojik süreçlere atfetmişlerdir. Çalışmamızda P, İ ve K gruplarında DOS ve doku örneklerinde TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyelerinin birbirleriyle olan korelasyon değerleri incelendiğinde; her üç grupta da DOS TNF- α ile doku TNF- α seviyesi arasında; DOS TGF- β ile doku TGF- β seviyesi arasında; DOS Fraktalkin ile doku Fraktalkin seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($p > 0,05$). Lomba ve diğerkleri tarafından belirtildiğı gibi, sitokinler reseptörüne bağlanmış veya tüketilmiş olabilir, bunların bir yansıması olarak doku ve DOS arasında bir uyumsuzluk görülebilir.

Biyopsilerdeki sitokinler ile DOS arasındaki farklar, uygulanan tekniklerin yüksek özgüllüğü göz önüne alındığında, DOS' da saptanamamasından kaynaklanıyor olabilir. Sjögren ve Anderson, Adibrad ve diğerlerinin çalışmalarında da benzer bir nokta öne sürülmüştür, burada dış ortamda tespit yokluğu, salgılanan sitokinlerin membran reseptörlerine bağlanması ve dolayısıyla dokuda kalması gibi bazı hipotezlerle ilişkili olabilir; sitokinler dış ortama salınacak ancak düzenleyici süreçler tarafından tüketilecek; veya emici kağıt tarafından emilmez [319, 320]. Bu nedenle, DOS' un dokudaki mevcut markırları tam olarak eksprese etmediği, markıra bağlı varyasyonlarla ve hatta lokal enflamatuvar koşullarla makul görünmektedir. DOS' da birim konsantrasyonda TGF- β seviyesinin P grubu $127,38 \pm 31,32$, İ grubu $103,78 \pm 26,23$, K grubunda $120,324 \pm 48,60$ ng/ml olduğu tespit edildi ancak gruplar arasında DOS TGF- β seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). DOS' da birim konsantrasyonda Fraktalkin seviyesinin P grubunda $0,81 \pm 0,35$, İ grubunda $0,60 \pm 0,35$, K grubunda $0,83 \pm 0,61$ ng/ml olduğu tespit edildi. Çalışmamızda gruplar arasında DOS fraktalkin seviyesinde anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$) ancak dokuda fraktalkin gruplar arasında anlamlı tespit edilmiştir. Çalışmamızda DOS 'da fraktalkin farkı görünmese de doku da bu fark çok barizdir. Hem kontrol hem de büyüme gruplarında sitokinler açısından doku da farklar mevcuttur. Çalışmamızda DOS' da saptayamadığımız bulguları çok erken dönemdeki doku da saptayabildik. Oral hijyen uygulanması ve örneklerin sonra toplanması mevcut sitokinlerin lokal etkisini o izlem zamanına bağlı olarak azaltmış olabilir.

DOS' ta amlodipin ile tedavi edilen hastalarda fraktalkin düzeyi hakkında yayınlanmış bir rapor bulunamamıştır. Bu nedenle verilerimiz benzer çalışmalarla karşılaştırılamamıştır.

Stashenko ve Jandinski yaptıkları çalışmada immünoflorasan tekniği ile sağlıklı dişeti örneklerinin incelenmesi sonucunda sağlıklı dişeti örneklerinde de TNF- α pozitif boyanan hücreleri tespit etmişlerdir [292]. Sağlıklı dişeti dokularında fizyolojik olarak bulunan nötrofiller, makrofajlar ve mononükleer hücrelerin sağlıklı bireylerin DOS' larında TNF- α bulunmasına neden olabileceği belirtilmiştir [175]. Çalışmamızda sağlıklı gruptaki bireylerin DOS örneklerinde de bir miktar TNF- α tespit edilmesi beklenen bir bulgudur. Çalışmamızda K grubundaki DOS örneklerinde de TNF- α tespit edilmiştir. Bu durumun nedeni olarak da, klinikte periodontal açıdan sağlıklı tanısı konan hastalarda bile gerçekte subklinik gingivitis

tablosu olabileceği düşünülebilir. Subklinik gingivitis tablosunda çok az da olsa enflamasyon bulunacağından dolayı bu durumda enflamasyonla ilişkilendirilen TNF- α 'nın tespit edilmesi beklenen bir durumdur.

Çalışmamızda 3 grup arasında doku örneklem bölgesi TNF- α seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p < 0.05$). Doku TNF- α seviyesi P grubunda $1,85 \pm 1,42$, İ grubunda $0,47 \pm 0,53$ ve K grubunda $1,33 \pm 1,15$ olarak tespit edildi. P grubunda TNF- α seviyesi İ grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p < 0,05$). Ayrıca K grubunda; DOS' da TNF- α - TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,728$) pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir. Dokuda TNF- α -TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,984$), TNF- α - Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,850$), pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir.

Periodontal patojenler, proenflamatuar bir sitokin olan TNF - α 'nın dişeti makrofajlarından salınmasını uyarır [321].

Tip I kolajen geninin sentezi, transkripsiyonel seviyede farklı sitokinler tarafından yüksek oranda düzenlenir. Özellikle doku onarımının fizyopatolojisinde önemli bir rolü olan TGF- β , tip I kolajen gen ekspresyonunu artırırken, TNF- α tip I kolajen gen ekspresyonunu azaltır [322]. Çalışmamızda İ grubunda; Doku TNF- α - TGF- β ($r=0,773$) pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmesi büyüme patogeneğinde bu sitokinlerin ilişkili olduğu bilgisini destekler.

TGF- β , ECM sentezi ve remodeling için önemli bir düzenleyicidir. Bu fonksiyonu, biri matriks bozulmasını azaltan ve diğeri matriks birikimini uyanan iki tamamlayıcı yolla gerçekleştirilir. TGF- β , hücre dışı proteinazların sentezini inhibe ederken, inhibitörlerinin ve yapısal ECM bileşenlerinin üretimini yukarı doğru düzenler. TGF- β 'nin ECM' nin oluşumu ve degradasyonunda rol oynayan genler üzerindeki birleşik etkisi, çoğunlukla iyi tanımlanmış hücre içi yollar aracılığıyla transkripsiyonel düzeyde uygulanır [323].

TNF- α , stromal kolajenazların üretimini indükleyerek veya bağ dokusunun ana yapısal bileşeni olan tip I kolajen gibi yapısal bileşenlerin sentezini inhibe ederek ECM birikimini azaltır. TNF- α ayrıca tip I kolajen gen ekspresyonunun TGF- β stimülasyonuna karşı koyar [322]. Bu bulgu, bu sitokinlerin fonksiyonel olarak antagonistik doğasını yansıtır ve

ECM oluşumunu ve yeniden modellenmesini düzenleyen karmaşık hücresel sinyalleri incelemek için yararlı bir paradigmayı temsil eder.

TNF- α gibi pro-enflamatuar sitokinlerin TGF- β ' ya karşı antagonistik aktiviteleri, doku homeostazı ve hücre dışı matriks birikiminin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır [322]. K grubu dahil tüm gruplarda tüm sitokinlerin gözlenmesi doku hemostazında ki rol oynadıklarının göstergesi olduğunu düşündürmektedir.

Fraktalkin, esas olarak endotel hücrelerde eksprese edilen yeni tanımlanmış bir membrana bağlı kemokindir [13]. Fraktalkinin başlangıçta interlökin-1 ve Tnf- α ile endotel hücreleri üzerinde eksprese edildiği ve insan ve murin dokularında geniş bir mRNA dağılımına sahip olduğu tarif edilmiştir [13, 324]. Fraktalkin için spesifik bir reseptör olan fraktalkin reseptörü T yardımcı tip 1 hücreler, doğal öldürücü hücreler ve makrofajlar üzerinde eksprese edilir [208, 325, 326]. Fraktalkin ve fraktalkin reseptörü-1 arasındaki etkileşimin, sedef hastalığı ve romatoid artrit gibi bazı enflamatuar hastalıkların patogenezi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür [208, 325]. Enflame diyeti dokusunda fraktalkin, ancak esas olarak endotel hücrelerde tespit edilmiş ve fraktalkin reseptörü-1, infiltre hücrelerde gösterilmiştir [211].

Fraktalkinin, çözünür bir form ve membrana bağlı bir form olarak var olduğu bulunmuştur ve bu da hem bir kemoatraktan hem de bir adezyon molekülü olarak işlev görecektir bir avantaj sağlamıştır. Çözünür fraktalkin, bir disintegrin ve metalopeptidaz 10 (ADAM10) ve tümör nekroz faktörü- α -dönüştürücü enzimin (ADAM17 / TACE) sınırlı proteoliziyle üretilir ve monosit, NK hücreler ve T hücreleri için bir kemoatraktan gibi davranır [327, 328]. İntegrin-bağımsız lökosit adezyonunu destekleyen membran bağlı fraktalkin, primer endotel hücrelerinde enflamatuvar sitokinler tarafından uyarılır [204].

CX3CR1, NK hücreler, sitotoksik T lenfositler, γ ve δ hücreler gibi sitotoksik lenfositler için yüzey belirteci ve yüksek seçicilik gösteren kemokin reseptörüdür. Bu hücreler bol miktarda granzim ve perforin taşımaktadır. Kanda ve sinoviyal sıvıda fraktalkin enflamatuar durumlarda monositlerde eksprese olmaktadır. RA' da sinoviyal sıvıda artmış fraktalkin ekspresyonu gösterilmiştir. Romatoid artritte fraktalkin ayrıca makrofaj, fibroblast,

endotelial ve denritik hücrelerde eksprese olmaktadır. RA' da fraktalkin lenfosit ve monositler için kemoatraktan ve hücrel adhezyon molekülü olarak rol oynar [220]. TNF- α inhibitörlerinin RA tedavisinde fraktalkin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Fraktalkin ve reseptörü CX3CR' nin enflamatuar süreçlerde lenfositlerde ve onunla ilişkili hücrelerde varlığı CX3CL1-CX3CR' nin immün ilişkili enflamatuar hastalıklarda ikili etkisinin varlığını düşündürür.

Meyle ve diğerlerinin yapmış oldukları bir derlemede fraktalkin olası enflamasyon markırları arasında tanımlanmıştır [293].

Fraktalkin ve CX3CR akut ve kronik enflamatuar süreçlerde rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda fraktalkin ve CX3CR' nin birçok dokuda eksprese olduğu ve immünolojik mekanizmalarla glomerülonefrit, artrit, vasküler patolojiler gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadığı gösterilmiştir [211, 222, 329]. Fraktalkin ve reseptörünün ekspresyonu romatolojik hastalıklarda da yükselmektedir.

Ruth ve diğerleri tarafından hayvanlar üzerinde yapılan deneysel romatoid artrit modellerinde, sinovium sıvılarında artmış oranda çözünür fraktalkin saptamışlardır [17]. Bu fraktalkin seviyesi osteoartrite bağlı gelişen sinovium sıvısındaki fraktalkin miktarı ile kıyaslandığında romatoid artrit modellerindeki fraktalkin seviyesinin anlamlı oranda daha yüksek olduğu görülmüştür.

Raychaudhuri ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada psöriyazisi olan hastalardan alınan punch biyopsilerde normal doku ile enflame doku arasında fraktalkin ve reseptörünün ekspresyonu açısından anlamlı fark saptamışlardır [329]. Benzer şekilde Crohn hastalığı aktif evresinde bağırsak mukozasında fraktalkin mRNA ekspresyonun arttığı bildirilmiş ve lenfosit infiltrasyonunun fraktalkin etkisi altında gerçekleştiği belirtilmiştir [222]. Tonsil dokusunda B hücrelerinde germinal merkezde fraktalkin ve reseptörünün ekspresyonu gösterilmiştir [330] .

Tong ve diğerleri 2020 yılında Çin' de 39 COVID-19 hastası ve 32 kontrol katılımcısının retrospektif bir çalışmasında, klinik verileri toplamışlar ve endotel hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu ELİSA testleriyle incelemişlerdir. COVID-19 hastalarında

endotelial hücre yapışma markırları FKN, VCAM-1 ve ICAM-1 yükseldiği, COVID-19' un şiddetinin, CRP, IL-18, TNF- α , IFN- γ , FKN, VCAM-1, ICAM-1 ve VAP-1' in serum seviyeleri ile ilişkili olduğu ve şiddetli COVID-19' dan iyileşme, serum CRP, IL-18, TNF- α , FKN, VCAM-1, ICAM-1 ve D-dimer seviyelerindeki azalmalarla ilişkilendirildiği bulgulanmıştır. Endotel hücre adezyon moleküllerinin artan ekspresyonunun COVID-19 hastalık şiddeti ile ilişkili olduğu ve pıhtılaşma disfonksiyonuna katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır [331].

Koizumi ve diğerleri osteoblastlar tarafından eksprese edilen fraktalkinin, osteoklast öncülleri tarafından eksprese edilen CX3CR1 yoluyla osteoklastojenezde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Çözünür fraktalkin, osteoklast öncülleri içeren kemik iliği hücrelerinin migrasyonunu indüklerken, immobilize fraktalkin osteoklast öncüllerinin sıkı adezyonuna aracılık eder. Fraktalkinin bloklanması osteoblastlarla birlikte kültürlendiğinde fare kemik iliği hücrelerinden osteoklast farklılaşmasını etkili bir şekilde inhibe etmektedir. Fraktalkin-CX3CR1 eksenini, romatoid artrit ,osteoporoz ve kanser kemik metastazı gibi kemik rezorpsiyon hastalıklarının terapötik müdahalesi için yeni bir hedef olabilir [332].

Hosokawa ve diğerleri, periodontal dokularda fraktalkin ekspresyonunu ve CX3CR1 eksprese eden hücrelerin infiltrasyonunu saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada; 17 orta şiddette kronik periodontitis hastasından (> 4 mm cep, > 3 mm CAL , yaygın radyografik kemik kaybı, sondlamada kanama olan bölgelerden) başlangıç periodontal tedaviden 3-4 hafta sonra klinik durumda bir iyileşme göstermeyen ve sondlamada kalıcı kanama sergileyen ve bölgelerin cerrahi tedavisi sırasında elde edilen dişeti doku biyopsisi (birleşim epiteli, dişeti oluğu epiteli ve bağ doku) ve 6 sağlıklı kontrol denekten elde edilen dişeti doku örnekleri ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) analizi ve immünohistokimiyayı kullanılarak analiz edilmiştir. Ayrıca, enzim bağlantılı immünosorbent testi (ELISA) kullanılarak *Porphyromonas gingivalis* lipopolisakkarit (LPS) de dahil olmak üzere patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP) ile uyarılmış endotel hücreleri tarafından fraktalkin üretimini incelemişlerdir. İltihaplı dişeti dokusuna infiltre olan lökositlerin, belirgin CX3CR1 seviyelerini eksprese ettiği gözlemlenmiştir [211]. Çalışma sonucunda; periodontal hastalıklı dokudaki lökositlerin CX3CR1' i eksprese ettiğini ve ligand kemokin fraktalkinin periodontal hastalıklı dokulardaki endotel hücrelerinde güçlü bir şekilde

eksprese edildiği gösterilmiştir. Ayrıca fraktalkinin ekspresyonu *P.gingivalis* LPS de dahil olmak üzere PAMP' ler tarafından yukarı regüle edilmiştir. Dolayısıyla, fraktalkin / CX3CR1 sistemi lökositlerin periodontal hastalıklı dokuya infiltrasyonunda önemli bir rol oynayabilir ve bu periodontal hastalığın ilerlemesine katkıda bulunabilir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da P ve İ ye bağlı büyüme gruplarında ve kontrol örneklerinde fraktalkin ekspresyonu büyümüş dişeti dokusu örneklerinde gösterilmiştir. Doku fraktalkin seviyesi P $2,59 \pm 1,91$, İ $0,54 \pm 0,68$ ve K grubunda $1,42 \pm 1,30$ olarak tespit edildi. Bu durum dişeti büyümesinin (periodontal hastalığın) başlangıç evresinden itibaren fraktalkinin var olduğunu gösterir.

Subramani ve diğerleri 2015 yılında TLR' lerin dişeti dokularında dişeti enflamasyonunun ilerlemesine ve TLR' lerin dişeti büyümesinin gelişimine katkıda bulunan bireysel hücre popülasyonları üzerindeki rolünü değerlendiren bir derlemede, TLR' lerin dişeti büyümesinde rolünü analiz etmişlerdir [333]. Son çalışmalar, fibrozis sırasında inflamasyonun önemli modülatörleri olarak doğuştan ve adaptif immün yanıtları düzenleyen bir grup reseptör olan Toll benzeri reseptörleri (TLR'ler) göstermektedir [334, 335]. TLR' ler patojene bağlı moleküler paternleri (PAMP) tanıır ve patojenleri zapt etmek için doğuştan gelen ve uyarlanabilir bağışıklık tepkilerini aktive eder. PAMP' ler, fibroblastlar [336] dahil olmak üzere çeşitli hücreler üzerinde sunulan patern tanıma reseptörleri (PRR' ler) tarafından tanınır. PAMP' ler ve PRR' ler arasındaki etkileşim, enfeksiyon sırasında birinci bir savunma hattı sağlar ve çok sayıda proenflamatuar kemokinin yanı sıra fibroblast proliferasyonunu ve ECM sentezini modüle eden sitokin tepkilerini aktive eder.

Enfeksiyöz ajanların tetiklediği enflamatuar ve bağışıklık mekanizmaları fibrozisin gelişiminde önemli olabilir [337]. TLR ligandları NF- κ B aktivasyonunu indükler, bu da dişeti büyümesi için kritik olan ve sonuçta adaptif bağışıklık için kritik bir bağlantı sağlayan enflamatuar sitokinlerin sentezine ve salınmasına neden olan çeşitli gen tiplerinin transkripsiyonuna yol açar [333]. Bu enflamatuar araçlar, endotelial hücreler üzerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu, fibroblastların çoğalmasını, bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu ve akut faz yanıtının uyarılmasını içeren çeşitli fibrojenik etkiler yaratabilir. Buna ek olarak, TLR ligandları ile doğrudan fibroblastları aktive edebilir ve

fibrojenesis gelişimini teşvik eder. Aynı zamanda TLR-2 ve TLR-4, hücre duvarı bileşeni lipoproteinleri ve peptidoglikanın tanınmasını ve dış zar bileşeni lipopolisakkaritlerinin tanınmasını takiben NF- κ B aktivasyonunu içeren bir dizi olayı uyarır. NF- κ B aktivasyonu, gingival fibroblastlarda sitokin üretimine ve adezyon moleküllerinin ekspresyonuna yol açar [333]. Plâğin indükleyici rolü göz önüne alındığında çalışmamızda P grubunda TNF- α seviyesi ve fraktalkin seviyesi I grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p < 0,05$). Çalışmamızda gingivitisli hastalar dahil olduğu için periodontal hastalık gelişiminde rol oynayan *P.gingivalis* gibi etken mo' lar daha düşük düzeyde olduğu için sitokin ekspresyonları daha düşük düzeyde çıkmış olabilir.

Wang ve diğerlerinin periapikal lezyonların gelişiminde CX3CL1 ve reseptörü CX3CR1' in ekspresyonun araştırılması amacıyla sıçanlarda tetiklenen periapikal lezyonların gelişiminde CX3CL1 ve reseptörü CX3CR1' in ekspresyonunu araştırmak ve bu maddelerin periapikal lezyonların patogeneziindeki olası rolünü araştırmak için yaptıkları çalışmada; periapikal lezyonların gelişimi histolojik ve enzim histokimyasal incelemesi ile araştırılmış, periapikal dokudaki fraktalkin ve CX3CR1' in dağılımları immünohistokimya ve immünofloresan boyama ile incelenmiştir. Her örnekte osteoklastlar ve fraktalkin -pozitif hücreler sayılmıştır. Sonuç olarak; fraktalkin ve CX3CR1, periapikal lezyonların gelişimiyle ilişkili olduğu, kemokin ve reseptörünün periapikal enflamasyon sırasında kemik rezorpsiyonu da dahil olmak üzere doku tahribatının ilerlemesinde rol oynayabileceği bildirilmiştir [223].

Bizim çalışmamızda da kontrol örneklerine göre plak ve ilaç grubunda doku örneklerinde gözlenen artmış fraktalkin düzeyi fraktalkinin dişeti büyümesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Gruplar arasında doku fraktalkin seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p < 0,05$). Doku fraktalkin seviyesi P $2,59 \pm 1,91$, I $0,54 \pm 0,68$ ve K grubunda $1,42 \pm 1,30$ olarak tespit edildi. Buna göre; P grubunda doku fraktalkine seviyesi I grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p < 0,05$)

Çalışmamızda DOS' da P grubunda TNF- α ile Fraktalkine seviyeleri arasında ($r=0,745$), TGF- β ile Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,647$) arasında pozitif yönde güçlü korelasyon gözlenmektedir. Doku TNF- α ile Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,689$), TGF- β ile

Fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon gözlenmektedir ($r=0,903$) ($p<0,05$). İ grubunda; Doku TGF- β ile fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir ($r=0,762$) ($p<0,05$). K grubunda; dokuda TNF- α - Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,850$), TGF- β - Fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir ($r=0,833$) ($p<0,05$).

Proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α ile diğer sitokinler arasındaki bu ilişki fraktalkin ve TGF- β ' nın enflamasyonla ilişkisini doğrularken, DOS' ta ilk defa değerlendirilen fraktalkinin enflamasyonla ve dişeti büyüme ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Pre-genomik çağda yapılan fonksiyonel çalışmalar, makrofajları proinflamatuvar makrofajlar (M1) ve antiinflamatuvar veya rezolüsyon makrofajlar (M2) olarak sınıflandırmıştır [338]. M1 makrofajları, interlökin (IL) -12 ve IL-8 ile ilişkilidir ve tip 1 T yardımcı (Th1) hücrelerini aktive ederken, M2 makrofajları TGF- β , vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ya da epidermal büyüme faktörü (EGF) ve aktive tip 2 T yardımcı (Th2) hücreleri ile ilişkilidir [339]. Enflamasyon sırasında makrofajlar, diapedez yoluyla yaralanma bölgesine gelir. Bu süreci, iltihabın erken aşamalarında TNF - α ve IL-12 üretimine yol açan M1 makrofaj aktivasyonu izler. Enflamasyonun çözünürlük aşamasında, M2 makrofajları TGF- β ve IL-10 sinyallemesi ile birlikte aktive edilir. Ek olarak, M2 makrofajları, anjiyogenez sürecini başlatan VEGF' yi indükler. Aktive TGF- β ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) sinyali, matriks üretimini ve skar oluşumunu başlatır [340, 341].

İnsanlarda CD14 ve CD16 yüzey proteinlerinin göreceli ekspresyon seviyelerine dayalı olarak, dolaşan periferel kan monositleri üç alt grupta sınıflandırılabilir: CD14^{yüksek} CD16⁻ (klasik), CD14^{yüksek} CD16^{int} (orta) ve CD14^{int} CD16^{yüksek} (klasik olmayan monositler). Bu alt kümelerin transkriptomik ve fonksiyonel analizleri, farklı fonksiyonel özellikleri ortaya çıkarmıştır. Bu üç alt grup arasında, orta ve klasik olmayan monositlerin yüksek seviyelerde CX3CR1 eksprese ettiği bilinmektedir [342].

Ekleme infiltre olan CX3CR1^{yüksek} T hücreleri, fraktalkine bağlı bir şekilde sinovyumdaki FLS' lere güçlü bir şekilde yapışır ve ayrıca IFN- γ üretir ve sitotoksik aktivite gösterir. RA hastalarının dolaşımdaki CX3CR1^{yüksek} T hücresi sayısı da yükselir [342]. Yakın tarihli bir

global transkriptomik çalışma, periferik T yardımcı (Tph) hücrelerin CX3CR1' i eksprese ettiğini ortaya koymuştur. Tph hücreleri B hücrelerini aktive edebilir ve RA' da doku iltihabına katkıda bulunabilen antikor üretimini indükleyebilir [343].

Epidemiyolojik çalışmalar, RA' nın, KVV ile ilişkili morbidite ve mortalite açısından önemli ölçüde artmış risk ile ilişkili olduğunu göstermiştir [344]. Çok sayıda rapor, fraktalkin – CX3CR1 ekseninin ateroskleroz ve kardiyovasküler olaylarda rol oynadığını belgelemiştir [345, 346]. FKN – CX3CR1 eksen, lökositlerin toplanmasına ve bunların vasküler hücrelerle etkileşimine aracılık ederek aterosklerotik patolojik sürece katılır. İlginç bir şekilde, insan CX3CR1 genindeki polimorfizmler, koroner arter hastalığı ve ateroskleroz için genetik risk faktörleridir. Bu polimorfizmler, her bir hücredeki fraktalkin bağlama sahalarının sayısında önemli bir azalma ile ilişkilidir [342].

Klinik araştırmalar, yüksek CD16⁺ monosit sayısının artmış kardiyovasküler risk ile ilişkili olduğunu göstermiştir [347]. CD14^{düşük} CD16^{yüksek} monositler, nitrik oksit biyoyararlanımı ve reaktif oksijen türlerinin vasküler üretimi ile ölçüldüğü üzere, daha gelişmiş vasküler disfonksiyon ile ilişkilidir [348]. Plazma fraktalkin seviyeleri, stabil olmayan anjina pectoris ve plak rüptürü olan hastalarda sağlıklı deneklerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde artmıştır [349]. CD16⁺ monositlerinin ateroskleroz gelişimindeki önemli rolünü gösteren artan sayıda kanıtla desteklenen bu çalışmalarla, CD16⁺ monositler, aterosklerozda yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi için potansiyel bir hedeftir [347].

Cx3cr1 eksikliğinin, *apolipoprotein E*- eksik (*Apoe*^{-/-}) farelerde arteriyoskleroz gelişimini önlediği gösterilmiştir. CX3CR1 intimal dendritik hücrelerinde eksprese edilir ve bu hücreler, *Apoe*^{-/-} farelere kıyasla CX3CR1^{-/-} / *Apoe*^{-/-} farelerin aortlarında daha az miktardadır [350]. Bu çalışmada, Cx3cr1 eksikliğinin aort duvarında dendritik hücrelerin birikimini bozduğu ve aterosklerotik yükü önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur [350].

Aterosklerotik lezyonlar, enflamatuar yanıtları düzenleyen çok sayıda bağışıklık hücresi, özellikle makrofajlar ve T hücreleri içerir [351]. Fraktalkinin ateroskleroz ve kardiyovasküler patofizyolojide yer alabileceğini gösteren kanıtlar artmaktadır [352]. Aterosklerotik koroner arter hastalığına benzer şekilde, diyabetik hastalarda damarların derin intimada fraktalkin

eksprese ettiği bildirilmiştir [353]. Dolaşımdaki monositler aterosklerotik lezyondaki köpük hücrelerinin öncüsüdür ve kemokinler, kandan damar duvarına monosit göçünün yönlendirilmesinde önemlidir [354].

Literatürde diyabet patogenezinde fraktalkinle ilgili birden fazla rapor vardır. Fraktalkinin, Tip 2 diyabetli (DM2) hastaların serumunda arttığı bulunmuştur [355]. Fraktalkin reseptör polimorfizmleri ve obezite [356] ile DM2 ve metabolik sendrom arasında da ilişki vardır [355].

Tüm bu hastalıkların periodontal hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla fraktalkinin periodontal hastalıkta da rol oynayabileceği açıktır.

Son yıllarda, amlodipin ile tedavi edilen olgularda dişeti büyümesi ile ilgili rapor sayısında da artış olduğu gözlenmektedir [307]. Çeşitli mekanizmalar önerilmiş olmasına rağmen, dişeti büyümelerinde amlodipinin rolü henüz açıklığa kavuşturulmamıştır [140].

Amlodipine bağlı büyümelerde patogeneze katkı sağlayan yeni sitokinlerin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur.

Sme ve diğerlerinin 2020 yılında IL-17A' nın amlodipine bağlı dişeti büyümesinde olası rolünü bulmak için yaptıkları bir çalışmada amlodipine bağlı dişeti büyümesi olan ve enflamatuar dişeti büyümesi olan hastalar ve sağlıklı bireylerin kan ve DOS rnekleri incelenmiş çalışma sonucunda, enflamasyondan bağımsız olarak yüksek IL - 17A ekspresyonun, amlodipinin diş eti dokularında IL - 17A artışına neden olabileceği gösterilmiştir. Bu artış dişeti büyüme dokularında fibrotik değişikliklere ve EMT' ye neden olabilir, dişetinde IL-17A ile ilişkili fibrotik değişiklikler kolajen tip I üretiminin artması ve EMT nin stimülasyonu neden olan TGF-β1 aracılığıyla meydana gelebilir [357]. İnterlökin - 17A (IL - 17A), proenflamatuar bir sitokin olarak bilinir ancak mevcut çalışmalar, fibrotik bozukluklarda ve epitelyal-mezenkimal geçişte (EMT) bir rol oynadığını göstermektedir.

Köse ve diğerlerinin 2020 yılında yaptıkları; DOS' da büyüme faktörü - β1 (TGF - β1), trombosit kaynaklı büyüme faktörü - BB (PDGF - BB) ve temel fibroblast büyüme faktörünü (bFGF) içeren büyüme faktörlerini araştırmayı amaçlayan bir pilot çalışmada amlodipine

bağlı dişeti büyümesi olan hastalar ve sağlıklı bireylerin DOS örnekleri karşılaştırılmış dişeti büyümesi + grubunun (9.50 ± 7.30 ng/ml) DOS örneklerindeki TGF- $\beta 1$ ' in ortalama konsantrasyonu, hem dişeti büyümesi - grubundan (2.07 ± 0.50 ng /ml) hem de kontrol grubundan (2.74 ± 1.01 ng / ml) daha yüksek olduğu bulgulanmıştır ($p = 0.014$). PDGF - BB' nin DOS düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.767$). Hastalardan alanların sadece % 33' ünde bFGF saptanmıştır. Bu sonuçlar, TGF- $\beta 1$ ' in ABDB'nin patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir [284]. Büyüme faktörleri amlodipine bağlı dişeti büyümesinin patogenezinde rol oynayabilir.

Bu çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da kontrol örneklerine göre plak grubunda doku örneklerinde gözlenen artmış fraktalkin ve TNF- α düzeyleri fraktalkinin dişeti büyümesinde ve periodontal enflamasyonda rol oynayabileceğini göstermektedir.

2013 yılında Arunachalam LT ve Rao S sağlıklı ve ABDB dokularında B hücreli lenfoma / lösemi-2 Gen (Bcl-2) dağılımını incelemiş ve ayrıca amlodipin ve sağlıklı kontrollerde deneklerden alınan dişeti örneklerindeki ekspresyonunu karşılaştırmış ve ilişkilendirmiştir. Bcl-2' nin, artmış kalsiyum akışı veya hücre içi kalsiyum yeniden lokalizasyonu ve mitokondride kalsiyum içeren apoptoz ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bcl - 2, hücre içi kalsiyumun yeniden dağılımını etkileyerek apoptozu inhibe eder.

Hiperplastik örneklerin ($n = 10$) hem bazal hem de suprabasal katmanda Bcl - 2 eksprese ederken, birkaç kontrol örneğinin ($n = 5$) Bcl-2 antikoruna zayıf bir şekilde pozitif olduğu (dağılım yalnızca bazal hücre katmanlarıyla sınırlıdır) bulunmuştur. Amlodipin uygulamasında görüldüğü gibi düşük kalsiyum koşullarında dişeti keratinositlerinin makul bir şekilde apoptozunun inhibe edildiği öne sürülmüştür, kalsiyumun sürekli yükselmesi, kalsiyum bağımlı proteaz ve DNA parçalanmasından sorumlu endonükleazlar gibi degrade edici enzimleri aktive etmek için zorunludur. Ayrıca, düşük kalsiyum seviyeleri altında büyüyen gingival keratinositler, apoptozu inhibe eden Bcl-2' yi eksprese etmiştir. Aksine, yüksek kalsiyum seviyeleri altında büyüyen keratinositler, apoptozu indükleyen Bax' ı eksprese etmiştir. Buna ek olarak, bu çalışma aynı zamanda tedavi süresini dişeti büyümesi ile ilişkilendirmiştir, çünkü 7 vakanın tedaviden sonraki 6 ay ila 2 yıl içinde hafif büyüme gösterdiğini, 6 vakanın ise tedaviden sonraki 2 ila 4 yıl içinde orta derecede dişeti büyümesi

gösterdiğini bildirmiştir. Ayrıca, 5 yıldan fazla süren terapi, iki vakada ciddi büyümeye neden olmuştur [358].

Proinflamatuvar sitokinlerin (örneğin TNF- α) varlığında amlodipin, insan dişeti fibroblastlarının apoptozunun inhibe edebilir ve böylece hiperplaziyi teşvik edebilir [359]. Birkaç rapor, amlodipine bağlı dişeti büyümesinin, diş eti enflamasyonunun yanı sıra apoptozdaki bir düşüş ve dişeti fibroblastlarında hücre döngüsünün aracılık ettiği proliferasyondaki bir artıştan kaynaklandığını göstermiştir [240, 360]. Hem fenitoin hem de siklosporin A' ya bağlı dişeti büyümesinin, bir enflamatuvar sitokin ve bir hücrel apoptoz indükleyicisi olan TNF - α ' dan kaynaklandığı bildirilmiştir.

Takeuchi ve diğerleri yaptıkları çalışmada, amlodipin varlığında hücre döngüsü, apoptotik yetenek, canlılık ve toplam insan gingival fibroblast sayısı (hGF) üzerindeki etkisi değerlendirilmiş, kültürlenmiş hareketsiz hGF' ler, TNF- α (100 ng / mL) $\pm$ AML (1 veya 10 μ M) veya tek başına AML (1 veya 10 μ M) ile uyarılmış ve daha sonra hücre döngüsü faz dağılımı ve ayrıca apoptotik sayısı açısından canlı ve toplam hücreler değerlendirilmiştir. Sonuçlar, AML tedavisinin hGF' lerde TNF- α kaynaklı apoptozu önemli ölçüde baskıladığını ve TNF- α varlığında canlılığı ve toplam hGF sayısını önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir [359].

Genetik duyarlılık, ABDB' nin şiddetini etkileyen faktörlerden biridir; aslında çoklu ilaca dirençli (*MDR1*) gen polimorfizmlerinin amlodipine karşı enflamatuvar yanıtı değiştirdiği varsayılmaktadır [361]. Kanıtlar, hasta duyarlılığı ile birlikte genetik faktörlerin ABDB patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir [361]. Genetik bir yatkınlık, ilaç etkileşimlerindeki, hücrelerdeki ve plak kaynaklı enflamasyondaki bir dizi faktörü etkileyebilir. Bunlar, gingival fibroblastların fonksiyonel heterojenliğini, kolajenolitik aktiviteyi, ilaç-reseptör bağlanmasını, ilaç metabolizmasını, kolajen sentezini ve diğer birçok faktörü içerir.

ABDB' de yer alan çoğu farmakolojik ajan türü, hücre membranları boyunca kalsiyum iyonlarının akışı üzerinde olumsuz etkilere sahip olabileceğinden, bu ajanların kolajenazın sentezine ve işlevine müdahale edebileceği varsayılmıştır [362]. Bu etki mekanizması siklosporin için gösterilmiştir. Aslında, son zamanlarda yapılan bir in vitro çalışma

göstermiştir ki, ilgili siklosporin dozları ile tedavi edilen insan gingival fibroblastlar, önemli ölçüde azaltılmış MMP-1 ve MMP-3 salgılama seviyeleri göstermektedir; bu düşük seviyeler hücre dışı matriksin bileşenlerinin birikmesine katkıda bulunabilir [363]. Kolajenazın in situ düşük mRNA seviyelerini gösteren bir hayvan çalışması, fagositozda bir azalma ve kolajen degradasyonu ile birlikte bu sonuçları daha da desteklemiştir[364]. ABDB' ne genetik yatkınlık siklosporin için araştırılırken, bildiğimiz kadarıyla amlodipin için henüz araştırılmamıştır.

Bir hipotez, amlodipinin, folik asit alımının azalması, adrenal kortekste aldosteron sentezinin bloklanması ve bunun sonucunda adrenokortikotropik hormon seviyesinde geri besleme artışı ve keratinosit büyüme faktörünün yukarı regülasyonunun bir sonucu olarak kolajenaz aktivitesinde değişikliğe neden olabileceği olabilir [71]. Ayrıca, enflamasyon C patojenleri ile ilişkili periodontal cepte amlodipinin toksik etkisinin bir sonucu olabilir ve TGF- β 1 gibi çeşitli sitokin faktörlerinin yukarı regülasyonuna yol açabilir [75].

Amlodipin tedavisi sırasında bakteriyel plak ve lokal inflamasyon mevcut olduğunda, görülen kalıcı aşırı diş eti büyümesinin altında yatan nedenin bir parçası olabilir.

Lauritano ve diğerlerinin 2019 yılında; ilaca bağlı dişeti büyümesinin moleküler yönlerini araştırmak amacıyla amlodipin ve dişeti fibroblastları üzerine yaptıkları in vitro çalışmada; Amlodipinin hücre dışı matriks ve yapışma molekülleri” yolağına ait genler üzerindeki etkisini analiz eden bir invitro çalışmada, dişeti fibroblastları 24 saat 1000 ng/ ml amlodipin ile tedavi edilerek, hücre dışı matriks ve yapışma molekülleri” yoluna ait 12 genin gen ekspresyon profili analiz edilmiştir. Amlodipinin fibrotik yanıtı değiştirip değiştirmediğini belirlemek için, fibroblastlar ATCC® Hücre Hatlarından amlodipin ile inkübe edilmiştir. “Ekstraselüler Matriks ve Yapışma Molekülleri” yolağına ait 12 genin gen ekspresyon seviyeleri, muamele edilmiş fibroblast hücre kültüründe, tedavi edilmemiş hücrelerle karşılaştırılarak , gerçek zamanlı PCR kullanılarak araştırılmıştır. Önemli genlerin çoğunun yukarı regüle edildiği, (CTNND2, COL4A1, ITGA2, ITGA7, MMP10, MMP11, MMP12, MMP26), COL7A1, LAMB1, MMP8 ve MMP16 hariç aşağı regüle edildiği gözlenmiştir. Bu proteinler tercihen fazladan hücresel matriks birikimini indükler. Bu çalışma, in vitro olarak kültürlenmiş insan dişeti fibroblastlarında, amlodipinin “ fibroblast

matriksi ve reseptörleri ” ne ait genlerin aktivitelerini teşvik edebileceğini göstermiştir. Bu sonuçlar, amlodipinin, dişeti fibroblastlarında fibroz yanıtının modülasyonu, hücre dışı matriks proteazlarının yukarı regüle edilmesi ve fibrotik dokunun birikmesini destekleme üzerinde bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir [365].

Tnf- α 'nın muhtemelen yerleşik fibroblastlar tarafından prokolajen sentezinin bloklanması ile yara iyileşme oranlarını etkileyen kolajen formasyon oranlarını inhibe ettiği bildirilmiştir. TNF- α , hücre dışı matriste bulunan kolajen metabolizmasında yer alan matris metaloproteinazların (MMP) sentezinin güçlü bir indükleyicisidir [315]. Bununla birlikte, bazı durumlarda (skar dokusu oluşumunun düzenlenmesi gibi), TNF- α 'nın fibrozu teşvik ettiği bildirilmektedir [366]. TNF- α varlığında dokularda net kolajen birikiminin inhibisyonu, kolajenaz aktivitesinin artmasına da bağlanmıştır [367]. Bu veriler, TNF- α 'nın muhtemelen doku içindeki biyokimyasal mikro ortama bağlı olarak kolajen protein sentezi üzerinde çift etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Proinflamatuvar sitokin TNF- α , ilaca bağlı dişeti büyümesinde artmış ekspresyon göstermiştir, bu da amlodipinin gingival fibroblastlar tarafından kolajen protein sentezi üzerindeki artmış etkisine katkıda bulunabilir.

Buskermolen ve diğerlerinin 2017 yılında; oral fibroblastlar üzerinde hangi kemokin reseptörlerinin bulunduğunu ve bu reseptörlerin çoğalma, migrasyon ve/veya yara iyileşme araçlarının salımını etkileyip etkilemediğini belirlemek amacıyla yapılan bir invitro bir çalışmada; İncelenen 19 kemokin reseptörünün 12'si dişeti fibroblastlarının yüzeyinde açıkça eksprese edilmiştir. Dişeti fibroblastları, akış sitometrisi ile analiz edilmiş, 12 farklı kemokin reseptörünü (CCR3, CCR4, CCR6, CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR4, CXCR5, CXCR7, CX3CR1 ve XCR1) eksprese etmiştir. Bu reseptörlerin dişeti fibroblastları üzerindeki aktivasyonunu incelemek için karşılık gelen on dört kemokin (CCL5, CCL15, CCL20, CCL22, CCL25, CCL27, CCL28, CXCL1, CXCL8, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CX3CL1 ve XCL1) kullanılmıştır. Bu on dört kemokin (CXCL8 ve CXCL12 hariç hepsi) onikisi dişeti fibroblast migrasyonunu uyarmıştır [368]. Hem ligand hem reseptör fraktalkinin oral fibroblastlar üzerinde eksprese edilmesi, bunun TGF- β gibi diğer sitokinlerle birlikte büyüme patogeneze katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

Klosowska ve diğeri' nin CX3CL1'in OA hastalarında sinovyumla ilişkili fibroblastlar üzerinde yapılan bir dizi invitro deneyde CX3CL1' in fibroblastlar üzerinde kemotaktik bir etkiye sahip olduğu ve bunun da CX3CL1 konsantrasyon gradyanı boyunca göçlerine neden olduğu gösterilmiştir [369]; Geçici olarak CX3CL1' e maruz kalan fibroblastlarda F-aktin yapısının araştırılması, bu hücrelerin hücre iskeletinin uyarana doğru hareket etmelerini sağlayan yapısal re-organizasyonunu ortaya çıkarmıştır. CX3CL1' in fibroblastlar tarafından sitokin üretimi üzerindeki etkisini ortaya koymak üzere yapılan bir diğer deneyde, üretilen sitokinlerin miktarı ve/veya profili üzerinde önemli bir etki görülmemiştir. Aynı deneyde fibroblastların CX3CL1 varlığında fibroblastların fonksiyonel CX3CR1 eksprese ettiği gözlemlenmiştir. Mitojenle aktive olan protein kinazların CX3CL1 aracılı aktivasyon olasılığı da dikkate alınmıştır. Bu hücre içi habercilerin aktivasyonu, OA' nın patofizyolojisinde yer alan belirli proteinlerin fibroblastlar tarafından üretilmesinde önemli bir rol oynadığı ve ayrıca Akt kinazı aktive ederek apoptozdan (antiapoptotik etki) kaçınma kabiliyetini başlattığı görülmüştür.

Periodontal hastalıklara benzer patogeneze sahip olan romatizmal hastalıklarda sinovyumla ilişkili fibroblastlar üzerinde yapılan bu çalışma fibroblastları etkilediği bilinen fraktalkinin dişeti büyüme patogenezinde de rol alabileceğini düşündürür.

Periodontal hastalıklı dokudaki enflamatuvar hücreler hastalığın ilerlemesi ile ilişkilidir. Bu hücrelerin toplanmasına ve tutulmasına, hücre adezyon molekülleri olarak bilinen bir hücre yüzeyi reseptörleri ailesi aracılık eder [370]. Adhezyon moleküllerinin, bazı proinflamatuvar sitokinlere yanıt olarak artritleri ve enflamatuvar hücrelerin aktivasyonunda kostimülatör reseptörler olarak hareket etme yetenekleri nedeniyle artrit gibi enflamatuvar hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır [371].

Endotel hücrelerinde enflamatuvar hücrelerin toplanması ve aktivasyonu, sitokinler (interlökin [IL] -1, IL-6 ve IL-18), kemokinler (fraktalkin) ve adezyon molekülleri (hücreler arası adhezyon molekülü 1 [ICAM-1]) ve vasküler hücre adhezyon molekülü-1 [VCAM-1]) gibi birçok enflamatuvar aracı sınıfının ekspresyonuna bağlıdır [372].

ICAM-1 ve VCAM-1 Ig süper ailesine aittir. ICAM-1, lökositler, endotelyal hücreler, fibroblastlar ve epitel hücreleri üzerinde geniş çapta dağılmıştır. VCAM-1, monositler, endotelyal hücreler ve sinovyal hücreler üzerinde eksprese edilir. İmmünolojik ve enflamatuvar reaksiyonlarda ICAM-1 ve VCAM-1, adezyonu ve ardından lökositlerin toplanmasını destekleyen yüzey glikoproteinleridir. Adezyon molekülleri, romatoid artrit patogenezinde rol oynamaktadır. Plazma ve sinovyal sıvıda sirküle olan ICAM-1 ve VCAM-1 seviyeleri, romatoid artrit hastalarında normal kontrollere kıyasla anlamlı olarak artmıştır [373].

Benzer şekilde, ICAM-1 ve VCAM-1' in periodontal hastalıklı dokuda eksprese edildiği bildirilmiştir. Hem ICAM-1 hem de VCAM-1 mRNA' nın uyarılmamış HGF tarafından eksprese edildiği, ICAM-1' in proinflamatuvar sitokinler (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ ve IL-2) ve *Escherichia coli* LPS tarafından indüklendiği bilinmektedir ve VCAM-1, IL-1 β tarafından indüklenir. Bu sonuçlar, HGF üzerindeki ICAM-1 ve VCAM-1' in periodontitisin ilerlemesi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir [373]. HGF' nin yüzeyindeki adezyon moleküllerinin yukarı regülasyonu, periodontal olarak hastalıklı doku bölgelerinde enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunda ve tutulmasında anahtar rol oynayabilir[373].

TGF- β 1, HGF üzerinde ICAM-1 ekspresyonunu ve aşağı regüle edilmiş VCAM-1 ekspresyonunu indüklediği bildirilmiştir. TGF- β 1' in ICAM-1 ekspresyonunu etkilemediği, ancak akciğer fibroblastları üzerindeki VCAM-1 ekspresyonunu aşağı regüle ettiği bildirilmiştir[373]. TGF- β 1' in etkisi, fibroblastların kaynağına bağlı olabilir. TGF- β 1' in esas olarak fibroblastlar üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Adezyon molekülleri ekspresyonundaki değişiklikler, TGF- β 1 stimülasyonundan sonra değişen bir fibroblast fenotipinin etkisi olabilir. Buskermelon' un çalışmasında gösterildiği gibi hem bir adezyon molekülü hemde kemokin olan çözünür fraktalkinin de oral fibroblastlar tarafından ekspresyonu, TGF- β aracılığı ile gingival fibroblastlarda, dişeti büyüme patogenezinde katkıda bulunabilir.

Çalışmamızda DOS' da P grubunda TNF- α ile TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,770$), TGF- β ile Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,647$) arasında pozitif yönde güçlü korelasyon

gözlenmektedir. Doku TNF- α ile TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,697$), TGF- β ile Fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon gözlenmektedir ($r=0,903$) ($p<0,05$).

Hücreler arası adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler adezyon molekülü-1' in (VCAM-1) insan gingival fibroblastlar (HGF) üzerindeki ekspresyonu, periodontal hastalıklı dokudaki enflamatuvar hücrelerin migrasyonu ve tutulması için önemli olabilir. Hosokawa ve diğerleri bir çalışmada; HGF' de hangi sitokinlerin ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonunu düzenlediğini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. TNF- α ve IFN- γ , HGF üzerinde hem ICAM-1 hem de VCAM-1 ekspresyonunu arttırdığını, İnterlökin (IL) -1 β esas olarak ICAM-1 ekspresyonu yukarı regüle ettiği, öte yandan IL-4 ve IL-13, HGF üzerinde yalnızca VCAM-1 ekspresyonunu artırdığı, IL-10 hem ICAM-1 hem de VCAM-1 ekspresyonunu modüle etmediği bulgulanmıştır. Bununla birlikte, TGF- β 1, TNF- α veya IL-4 tarafından indüklenen VCAM-1 ekspresyonunu inhibe ettiği, HGF tarafından hem ICAM-1 hem de VCAM-1 ekspresyonu, nükleer faktör-kappaB (NF- κ B) aktivasyon inhibitörü (MG-132) tarafından inhibe edildiği gözlemlenmiştir. Mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK) inhibitörleri, TNF- α tarafından indüklenen ICAM-1 ekspresyonunu etkilememiştir. Bu sonuçlar, periodontal hastalıklı dokudaki sitokin dengesinin HGF üzerindeki ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonunun kontrolü için gerekli olabileceği ve ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonunun dengesinin periodontal hastalıklı dokuda lökosit infiltrasyonunun düzenlenmesi ve tutulması için önemli olabileceği gösterilmiştir [373]. Bizde çalışma gruplarımızı oluştururken HGF üzerinde de dolayısı ile büyüme patogenezinde TGF- β , TNF- α ve sinoviyal fibroblastları etkilediği bilinen fraktalkin sitokinlerini değerlendirmeyi amaçladık.

Karmaşık çok faktörlü bir hastalık olan periodontitisin hem çevresel hem de genetik faktörler tarafından belirlendiği kanıtlanmıştır. Periodontitisin patogenezinde rol alan patojenik bakterilere ve diğer çevresel faktörlere (örneğin sigara ve stres) [374] ek olarak, genetik faktörlerin periodontitis etiyolojisinde rol oynayabileceğini öne süren kanıtlar da vardır [375]. Li ve diğerleri yaptıkları çalışmada *ICAM-1* rs5498 ve *VCAM-1* rs1041163 polimorfizmlerinin kronik periodontitise katkıda bulunduğunu ve *ICAM-1* rs5498 ve *VCAM-1* rs1041163 gen polimorfizmlerinin Çin popülasyonunda periodontitis şiddeti ile ilişkili olabileceğini göstermişlerdir [376].

CAM seviyesi, periodontal enflamasyon derecesi ile pozitif olarak ilişkilidir [377]. Yapılan bir çalışma, ICAM-1' in kronik periodontitisin erken evresinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını ileri sürmüştür [378]. Monositler ve lenfositlerle birleştirilen VCAM-1, vasküler adezyon moleküllerini eksprese etmek için vasküler endotelial hücreleri aktive edebilir [379]. Sitokinlerin ve enzimlerin salınımı iltihabın ilerlemesini destekler. Benzer şekilde hem bir kemokin hem de adezyon molekülü olan fraktalkin de periodontal hastalıkların ilerlemesine neden olabilir.

TGF- β yaygın bir şekilde anahtar fibrojenik sitokin olarak tanınır [380]. TGF- β 1 epitelyal, hematopoietik ve bağ dokusu hücrelerinde eksprese edilir. Ağırlıklı olarak T düzenleyici (Treg) hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilir ve ayrıca çok çeşitli temel işlevleri indükleyebilir. TGF- β 1, ECM moleküllerinin migrasyonunu ve sentezini uyarma ve ECM' nin parçalanmasını önleme yeteneğinin yanı sıra hem pro-enflamatuar hem de anti-enflamatuar özellikler sergilediğinden, tüm gingival büyüme tipleri ile ilgili olarak yoğun bir şekilde değerlendirilmiştir [224, 381].

TGF- β izoformları, kalp kapakçığı ve ikincil damak oluşumu gibi embriyonik gelişimin farklı aşamalarında EMT' yi kuvvetle indükler. Embriyogeneze ek olarak, TGF- β aile üyeleri EMT ile ilgili değişikliklerde yara iyileşmesi, fibroz ve kanser dahil olmak üzere patolojik durumlar sırasında önemli bir role sahiptir[382]. TGF- β ' nın EMT üzerindeki etkisi, bazı çözünür faktörlerle şiddetlenebilir.

TGF- β ve CTGF ilişkisi üzerine araştırmalar, TGF- β ' nın fibroblastlar tarafından CTGF üretimini uyardığını göstermiştir [383, 384]. TGF- β 1' e benzer şekilde CTGF ayrıca fibroblastlarda tip I kollajen, integrin α 5 ve fibronektin üretimini uyarabilir. Böylece, TGF- β ve CTGF dokuda iyileşme ve ve rejenerasyonda düzenleyici yolakta işlev görebilir ve yüksek seviyelerde varsa fibroza katkıda bulunabilir [8].

TGF - β , ECM' nin en yoğun çalışılan düzenleyicisi olmuştur ve bir dizi hastalıkta fibroz gelişimi ile ilişkilendirilmiştir [333]. Etkinleştirildikten sonra TGF- β sinyalleri, transmembran reseptörleri yoluyla Smad proteinleri olarak bilinen sinyal ara maddelerini tetikler ve prokollajen I ve III dahil hayati hedef genlerin transkripsiyonunu modüle eder [385].

TGF- β , fibrotik sürecin aracı olarak yaygın bir şekilde kabul edilir ve SMAD3 yoluyla artan TGF- β sinyali, kollajen tip I' in ekspresyonunu artırır (Chen ve diğerleri, 1999) [386].

Kim ve diğerleri, son yıllarda birkaç fibrotik durumla ilişkilendirilen matriselüler bir protein olan periostinin ekspresyon seviyelerini araştırdıkları çalışmalarında, nifedipinin insan dişeti fibroblastlarındaki periostini TGF- β bağımlı bir şekilde yukarı regüle ettiğini göstermiştir [387].

Linden ve diğerleri TGF - β 1 gen polimorfizminin, siklosporin A ve bir KKB' nin birlikte kullanımı ile ilişkili dişeti büyümesi şiddetini etkileyebileceğini göstermiştir [388].

TGF- β ' nin hücre dışı matriks oluşumu için uyarıcı olduğu, proteolitik matris degradasyonu için inhibe edici olduğu gösterilmiştir [389]. Artan anabolizmanın ve azalan dişeti dokusunun katabolizmasının esas olarak ilaca bağlı dişeti büyümesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir [2]. Saito ve diğerleri büyümüş dişeti örneklerinde TGF- β ve reseptörleri için önemli immün boyama göstermiş ve TGF- β ' nin ilaca bağlı dişeti büyümesinde önemli büyüme faktörlerinden biri olabileceği sonucuna varmıştır [11]. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, doku fibrozu için güvenilir bir belirteç olan hem TGF- β hem de CTGF' nin İBDB' de önemli araçlar olduğunu göstermiştir [8, 276].

Seymour ve diğerleri amlodipinin ABDB olan hastaların DOS' na sekestrasyonunu ve bu yan etkiye göre önemini göstermiştir [73]. Ayrıca, İBDB hastalarının DOS örneklerinde saptanan TGF - β 1 düzeylerinin dişeti büyümesi için olası bir gösterge olduğu bildirilmiştir [390].

Khalaf ve diğerleri tarafından, kronik periodontal hastalığı olan 30 hasta ve sağlıklı 30 denek olmak üzere toplam 60 hastadan toplanan DOS örneklerinde periodontal hastalığın potansiyel markırları araştırılmıştır. Araştırmacılar, periodontal hastalığı olan hastalarda, kontrollere kıyasla, TGF β 1 düzeylerinin serum, tükürük ve DOS' ta önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır [391].

Steinsvoll ve diğerleri, iltihaplı periodontal dokuların sağlıklı diş etinden 100 kat daha fazla TGF- β 1⁺ hücresi içerdiğini bildirmiştir [392]. Bu immünohistokimyasal çalışma, iltihaplı diş etinde bu büyüme faktörünün yukarı regülasyonunun kronik marjinal periodontitisli

hastalarda eş zamanlı olarak meydana gelen destrüktif gingival enflamatuvar cevapları hafifletebilir olarak yorumlamışlardır.

Skaleric ve diğerleri daha belirgin dişeti iltihabı olan bölgelerden alınan DOS örneklerinde TGF- β 1' i yüksek seviyelerde bulmuşlardır [393].

Çalışmamızda literatür verileriyle uyumlu olarak DOS' da birim konsantrasyonda TGF- β seviyesinin P grubu $127,38 \pm 31,32$, İ grubu $103,78 \pm 26,23$, K grubunda $120,324 \pm 48,60$ ng/ml olduğu tespit edildi ancak gruplar arasında DOS TGF- β seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Yine çalışmamızda Doku TGF- β seviyesinin P grubunda $1,65 \pm 1,13$, İ grubunda $0,76 \pm 0,98$ ve K grubunda $1,60 \pm 1,60$ olduğu tespit edildi ve gruplar arasında doku TGF- β seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

İ grubunda; Doku TNF- α - TGF- β ($r=0,773$), TGF- β ile fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir ($r=0,762$) ($p<0,05$).

K grubunda; DOS' da TNF- α - TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,728$) pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir. Dokuda TNF- α -TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,984$), TGF- β - Fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir ($r=0,833$) ($p<0,05$).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda Plağa bağlı, Amlodipine kullanımına bağlı dişeti büyümesi olan ve sistemik olarak sağlıklı, dişeti büyümesi olmayan, kontrol gruplarından alınan DOS ve doku örneklerinde TNF- α , Fraktalkin ve TGF- β seviyeleri değerlendirildi. Bu değerlerin birbirleri ile ve klinik parametrelerle ilişkileri ortaya kondu. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde;

1. Doku fraktalkin seviyesinde 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p < 0.05$). P grubunda fraktalkin seviyesi İ grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p < 0,05$).
2. Gruplar arasında DOS Fraktalkin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).
3. Bu çalışmada Plağa bağlı ve Amlodipine kullanımına bağlı dişeti büyümesi olan ve büyüme gözlenmeyen kontrol grubunda DOS ve doku örneklerinde fraktalkin ekspresyonunu gösterilmiştir.
4. Bu çalışmada fraktalkin ilk kez DOS' da çalışılmıştır.
5. DOS' da birim konsantrasyonda TNF- α seviyesinde gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık tespit edildi. İ grubu DOS TNF- α seviyesi K grubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edildi.
6. Doku TNF- α seviyesinde 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p < 0.05$). P grubunda TNF- α seviyesi İ grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p < 0,05$).
7. Örneklem bölgesi Pİ değerleri P-İ, P-K, İ-K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı tespit edilmiştir. Pİ ortalamasının P grubunda İ ve K gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptandı. Yine İ grubu Pİ ortalaması K grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi.

8. Örneklem bölgesi; P ve İ gruplarına ait Gİ, CD, SK, DBİ değerleri ortalaması K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiştir ($p>0,05$).
9. P grubu örneklem bölgesi klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde ise Gİ - SK ($r=0,904$) arasında pozitif yönde çok güçlü korelasyon bulundu.
10. Doku TNF- α seviyesi ile P grubu örneklem bölgesi DBİ arasında negatif yönde orta derecede bir korelasyon olduğu görülmüştür ($r= -0,532$) ($p<0,05$).
11. İ grubu örneklem bölgesi klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde; Pİ - Gİ ($r=0,496$) orta derecede, Pİ - SK ($r=0,485$) orta derecede, Gİ - SK ($r=0,989$) çok güçlü, CD - DBİ ($r= 0,539$) arasında pozitif yönde orta derecede korelasyon saptandı.
12. Doku TGF- β seviyesi ile İ grubu örneklem bölgesi Gİ değerleri arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu görülmüştür ($r=-0,487$) ($p<0,05$).
13. K grubu örneklem bölgesi klinik parametre ortalamaları değerlendirildiğinde Gİ - SK ($r=1,00$) arasında pozitif yönde çok güçlü korelasyon olduğu tespit edilmiştir.
14. Doku fraktalkin seviyesi ile K grubu örneklem bölgesi Pİ değerleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon olduğu görülmüştür ($r=0,643$), ($p<0,05$).
15. DOS ve doku TNF- α , TGF- β , Fraktalkin seviyelerinin grup içi korelasyon değerleri incelendiğinde K grubunda; DOS' da TNF- α - TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,728$) pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir. Dokuda TNF- α -TGF- β seviyeleri arasında ($r=0,984$), TNF- α - Fraktalkin seviyeleri arasında ($r=0,850$), TGF- β -Fraktalkin seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmektedir ($r=0,833$)($p<0,05$).

Farklı kemokin sınıfları arasında, benzersiz fonksiyonel ve yapısal özelliklere sahip fraktalkin, enflamasyona veya anti-enflamasyona katılabilir. Dokuya özgü fraktalkin/

CX3CR1 ekseni, belirli bir dokuda çeşitli hastalıkların ilerlemesine katkıda bulunur. Çalışmamızda periodontal hastalıkla benzer hastalık patogeneze sahip çeşitli sistemik hastalıklarda rol oynadığı açık bir şekilde gösterilen fraktalkinin öncelikle periodontal dokulardaki varlığını değerlendirmek amaçlanmıştır. Çalışmamız dişeti büyümelerinde DOS' da ve dişeti dokusunda fraktalkin kemokininin araştırıldığı ilk çalışmadır, mevcut çalışmanın en önemli limitasyonunun örnek alınan hasta sayısı olduğunu söylemek gerekir, daha fazla örnek sayısı ile yapılacak klinik araştırmalar dişeti büyümesi patogenezinde ve enflamasyonda bu kemokinin rolünün daha iyi anlaşılabilmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca periodontitiste, DOS' da, dokuda, tükürükte yapılacak ileri çalışmalar periodontal hastalık patogeneze katkı sağlayabilir.





KAYNAKLAR

1. Lindhe, N.P.L.J., (2008). Regenerative Periodontal Therapy. *Periodontology 2000*. 5, 541-562.
2. Hallmon, W.W. and Rossmann, J.A. (1999). The role of drugs in the pathogenesis of gingival overgrowth. A collective review of current concepts. *Periodontology 2000*, 21(1), 176-196.
3. Seymour, R., Ellis, J. and Thomason, J. (2000). Risk factors for drug-induced gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology: Review article*, 27(4), 217-223.
4. Seymour, R. and Heasman, P. (1988). Drugs and the periodontium. *Journal of Clinical Periodontology*, 15(1), 1-16.
5. Seymour, R., Thomason, J. and Ellis, J. (1996). The pathogenesis of drug-induced gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology*, 23(3), 165-175.
6. Trackman, P. and Kantarci, A. (2004). Connective tissue metabolism and gingival overgrowth. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 15(3), 165-175.
7. Ellis, J.S., Seymour, R.A., Steele, J.G., Robertson, P., Butler, T.J. and Thomason, J.M. (1999). Prevalence of gingival overgrowth induced by calcium channel blockers: a community-based study. *Journal of Periodontology*, 70(1), 63-67.
8. Uzel, M.I., Kantarci A., Hong H.H., Uygur C., Sheff M.C, Firatli E., and Trackman P.C., (2001). Connective tissue growth factor in drug-induced gingival overgrowth. *Journal of Periodontology*, 72(7), 921-931.
9. Saito, K., Mori, S., Tanda, N., and Sakamoto, S. (1999). Expression of p53 protein and Ki-67 antigen in gingival hyperplasia induced by nifedipine and phenytoin. *Journal of Periodontology*, 70(6), 581-586.
10. Iacopino, A.M., Doxey, D., Cutler, C.W., Nares, S., Stoeve, K., Fojt, J., Gonzales, A., and Dill, R.E., (1997). Phenytoin and cyclosporine A specifically regulate macrophage phenotype and expression of platelet-derived growth factor and interleukin-1 in vitro and in vivo: Possible molecular mechanism of drug-induced gingival hyperplasia. *Journal of Periodontology*, 68(1), 73-83.
11. Saito, K., Mori, S., Iwakura, M., and Sakamoto, S., (1996). Immunohistochemical localization of transforming growth factor β , basic fibroblast growth factor and

heparan sulphate glycosaminoglycan in gingival hyperplasia induced by nifedipine and phenytoin. *Journal of Periodontal Research*, 31(8), 545-555.

12. Liu, W., Jiang, L., Bian, C., Liang, Y., Xing, R., Yishakea, M., and. Dong, J, (2016). Role of CX3CL1 in Diseases. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 64(5), 371-383.
13. Bazan, J.F., Bacon, K.B., Hardiman, G., Wang, W., Soo, K., Rossi, D., Greaves, D.R., Zlotnik, A., and Schall, T.J., (1997). A new class of membrane-bound chemokine with a CX 3 C motif. *Nature*, 385(6617), 640-644.
14. Guo, J., Chen, T., Wang, B., Zhang, M., An, H., Guo, Z., Yu, Y., Qin, Z., and Cao, X., (2003). Chemoattraction, adhesion and activation of natural killer cells are involved in the antitumor immune response induced by fractalkine/CX3CL1. *Immunology Letters*, 89(1), 1-7.
15. Nukiwa, M., Andarini, S., Zaini, J., Xin, H., Kanehira, M., Suzuki, T., Fukuhara, T., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., and Saijo, Y., (2006). Dendritic cells modified to express fractalkine/CX3CL1 in the treatment of preexisting tumors. *European Journal of Immunology*, 36(4), 1019-1027.
16. Chen, S., Bacon, K.B., Li, L., Garcia, G.E., Xia, Y. Lo, D., Thompson, D.A., Siani, M.A., Yamamoto, T., and Harrison, J.K. (1998). In vivo inhibition of CC and CX3C chemokine-induced leukocyte infiltration and attenuation of glomerulonephritis in Wistar-Kyoto (WKY) rats by vMIP-II. *The Journal of Experimental Medicine*, 188(1), 193-198.
17. Ruth, J.H., Volin, M.V. Haines, III G.K., Woodruff, D.C., Katschke, Jr K.J., Woods, J.M., Park, C.C., Morel, J.C., and Koch, A.E., (2001). Fractalkine, a novel chemokine in rheumatoid arthritis and in rat adjuvant-induced arthritis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 44(7), 1568-1581.
18. Listgarten, M.A., (1986). Pathogenesis of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 13(5), 418-425.
19. Page, R.C. and Kornman, K.S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, 14(1), 9-11.

20. Trombelli, L., Farina R., Silva, C.O., and Tatakis, D.N., (2018). Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, S44-S67.
21. Huang, S., Li, Z., He, T., Bo, C., Chang, J., Li, L., He, Y., Liu, J., Charbonneau, D., and Li, R. (2016). Microbiota-based signature of gingivitis treatments: a randomized study. *Scientific Reports*, 6(1), 1-9.
22. Papapanou, P.N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D.H., Flemmig, T.F., Garcia, R., Giannobile, W.V., and Graziani, F., (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89, S173-S182.
23. Chapple, I.L., Mealey, B.L., Van Dyke, T.E., Bartold, P.M., Dommisch, H., Eickholz, P., Geisinger, M.L., Genco, R.J., Glogauer, M., and Goldstein, M., (2018). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89, S74-S84.
24. Lang, N.P. and Bartold, P.M., (2018). Periodontal health. *Journal of Periodontology*, 89, S9-S16.
25. Joss, A., Adler, R., and Lang, N.P., (1994). Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *Journal of Clinical Periodontology*, 21(6), 402-408.
26. Matulienė, G., Pjetursson, B.E., Salvi, G.E., Schmidlin, K., Brägger, U., Zwahlen, M., and Lang, N.P., (2008). Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(8), 685-695.
27. Murakami, S., Mealey, B.L., Mariotti, A., and Chapple, I.L., (2018). Dental plaque-induced gingival conditions. *Journal Of Clinical Periodontology*, 45, S17-S27.
28. Ramseier, C.A., Mirra, D., Schütz, C., Sculean, A., Lang, N.P., Walter, C., and Salvi, G.E. (2015). Bleeding on probing as it relates to smoking status in patients enrolled in supportive periodontal therapy for at least 5 years. *Journal of Clinical Periodontology*. 42(2), 150-159.

29. Holmstrup, P., Plemons, J., and Meyle, J., (2018). Non-plaque-induced gingival diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, S28-S43.
30. Holtfreter, B., Albandar, J.M., Dietrich, T., Dye, B.A., Eaton, K.A., Eke, P.I., Papapanou, P.N. and Kocher, T., (2015). Standards for reporting chronic periodontitis prevalence and severity in epidemiologic studies: Proposed standards from the Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(5), 407-412.
31. Page, R.C. and Schroeder, H.E., (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 34(3), 235.
32. Page, R.C., Offenbacher, S., Schroeder, H.E., Seymour, G.J., and Kornman, K.S., (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000*, 14(1), 216-248.
33. Darveau, R.P., (2010). Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*, 8(7), 481-490.
34. Meyle, J. and Chapple, I., (2015). Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*, 69(1), 7-17.
35. Kinane, D.F., (2000). Regulators of tissue destruction and homeostasis as diagnostic aids in periodontology. *Periodontology 2000*, 24(1), 215-225.
36. Baker, P.J., (2000). The role of immune responses in bone loss during periodontal disease. *Microbes and Infection*, 2(10), 1181-1192.
37. Madianos, P., Bobetsis, Y., and Kinane, D., (2005). Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *Journal of Clinical Periodontology*, 32, 57-71.
38. Loomer, P.M., (2004). Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 34(1), 49-56.
39. Gemmell, E., Marshall, R.I., and Seymour, G.J., (1997). Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 14(1), 112-143.
40. Darveau, R.P., Tanner, A., and Page, R.C. (1997). The microbial challenge in periodontitis. *Periodontology 2000*, 14(1), 12-32.

41. Novak, J.N., (2006). Chronic periodontitis. In Newman MG, Takei HH, Klockkevold PR, Carranza FA (eds), Carranza's Clinical Periodontology. 10th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. 494–499.
42. Bosshardt, D. and Lang N., (2005). The junctional epithelium: from health to disease. *Journal of Dental Research*, 84(1), 9-20.
43. Haake S.K., Sanz M., (2003). Periodontal Microbiology. In Newman MG, Takei HH, Carranza FA (eds), Carranza's Clinical Periodontology. 9th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. 450-456.
44. Kinane, D.F., Podmore, M., and Ebersole, J., (2001). Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents. *Periodontology 2000*, 26(1), 54-91.
45. Kantarci, A., Oyaizu, K., and Van Dyke, T.E., (2003). Neutrophil-mediated tissue injury in periodontal disease pathogenesis: findings from localized aggressive periodontitis. *Journal Of Periodontology*, 74(1), 66-75.
46. Erdemir, E.O., Duran, I., and Haliloglu, S., (2004). Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 31(2), 99-104.
47. Giannopoulou, C., Kamma, J.J., and Mombelli, A., (2003). Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *Journal of Clinical Periodontology*. 30(2), 145-153.
48. Boström, L., Linder, L.E., and Bergström, J., (1999). Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 26(6), 352-357.
49. Ishikawa, I., (2007). Host responses in periodontal diseases: a preview. *Periodontology 2000*, 43(1), 9-13.
50. Amulic, B., Cazalet, C., Hayes, G.L., Metzler, K.D., and Zychlinsky, A., (2012). Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annual Review of Immunology*, 30, 459-489.
51. Liu, K.Z., Hynes, A., Man, A., Alsagheer, A., Singer, D., and Scott, D., (2006). Increased local matrix metalloproteinase-8 expression in the periodontal connective tissues of smokers with periodontal disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1762(8), 775-780.

52. Smalley, J., (1994). Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Advances in Dental Research*, 8(2), 320-328.
53. Mócsai, A., (2013). Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. *Journal of Experimental Medicine*, 210(7), 1283-1299.
54. Hajishengallis, E. and Hajishengallis, G., (2014). Neutrophil homeostasis and periodontal health in children and adults. *Journal of Dental Research*, 93(3), 231-237.
55. Ryder, M.I., (2010). Comparison of neutrophil functions in aggressive and chronic periodontitis. *Periodontology 2000*, 53(1), 124-137.
56. Schenkein, H.A., (2006). Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontology 2000*, 40(1), 77-93.
57. Aboodi, G.M., Goldberg, M.B., and Glogauer, M. (2011). Refractory periodontitis population characterized by a hyperactive oral neutrophil phenotype. *Journal of Periodontology*, 82(5), 726-733.
58. Takashiba, S., Naruishi, K., and Murayama, Y., (2003). Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. *Journal of Periodontology*, 74(1), 103-110.
59. Dennison, D.K. and Van Dyke, T.E., (1997). The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontology 2000*, 14(1), 54-78.
60. Hanazawa, S., Kawata, Y., Takeshita, A., Kumada, H., Okithu, M., Tanaka, S, Yamamoto, Y., Masuda, T., Umemoto, T., and Kitano, S., (1993). Expression of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in adult periodontal disease: increased monocyte chemotactic activity in crevicular fluids and induction of MCP-1 expression in gingival tissues. *Infection and Immunity*, 61(12), 5219-5224.
61. Salvi, G.E. and Lang, N.P., (2005). Host response modulation in the management of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 32, 108-129.
62. Kornman, K.S., Page, R.C., and Tonetti, M.S., (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology 2000*, 14(1), 33-53.
63. Grover, V., Kapoor, A., and Marya, C., (2007). Amlodipine induced gingival hyperplasia.

- Journal of Oral Health and Community Dentistry*, 1(1), 19-22.
64. Carranza, F.A. and Hogan, E.L., (2006). Gingival Enlargement. In Newman MG, Takei HH, Klockkevold PR, Carranza FA (eds), Carranza's Clinical Periodontology. 10 th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia.742-750
 65. Caton, J.G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I.L., Jepsen, S., Kornman, K.S., Mealey, B.L., Papapanou, P.N., Sanz, M., and Tonetti, M.S., (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of Periodontology*, 89, S1-S8.
 66. Srivastava, A.K., Kundu, D., Bandyopadhyay, P., and Pal, A.K., (2010). Management of amlodipine-induced gingival enlargement: Series of three cases. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 14(4), 279.
 67. Nyska, A., Shemesh, M., Tal, H., and Dayan, D., (1994). Gingival hyperplasia induced by calcium channel blockers: mode of action. *Medical Hypotheses*, 43(2), 115-118.
 68. Kimball, O., (1939). The treatment of epilepsy with sodium diphenyl hydantoinate. *Journal of the American Medical Association*, 112(13), 1244-1245.
 69. Rateitschak-Plüss, E., Hefti, A., Lörtscher, R., and Thiel, G., (1983). Initial observation that cyclosporin-A induces gingival enlargement in man. *Journal of Clinical Periodontology*, 10(3), 237-246.
 70. Lederman, D., Lumerman, H., Reuben, S., and Freedman, P.D., (1984). Gingival hyperplasia associated with nifedipine therapy: report of a case. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 57(6), 620-622.
 71. Triveni, M., Rudrakshi, C., and Mehta, D., (2009). Amlodipine-induced gingival overgrowth. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 13(3), 160.
 72. Nishikawa, S., Nagata, T., Morisaki, I., Oka, T., and Ishida, H., (1996). Pathogenesis of drug-induced gingival overgrowth. A review of studies in the rat model. *Journal of Periodontology*, 67(5), 463-471.
 73. Seymour, R., Ellis, J., Thomason, J., Monkman, S., and Idle, J., (1994). Amlodipine-induced gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology*, 21(4), 281-283.
 74. Joshi, S. and Bansal, S., (2013). A rare case report of amlodipine-induced gingival enlargement and review of its pathogenesis. *Case Reports in Dentistry*, 2013.

75. Lafzi, A., Farahani, R.M.Z., and Shoja, M.A.M., (2006). Amlodipine-induced gingival hyperplasia. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 11(6), 480-482.
76. Silverstein, L.H., Koch, J.P., Lefkove, M.D., Garnick, J.J., Singh, B. and Steflik, D.E., (1995). Nifedipine-induced gingival enlargement around dental implants: a clinical report. *Journal of Oral Implantology*, 21(2), 116-120.
77. Chee, W.W. and Jansen, C.E., (1994). Phenytoin hyperplasia occurring in relation to titanium implants: a clinical report. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 9(1).
78. MacBeth, N., Sterlitz, S., and Bryce, G., (2019). Amlodipine-induced gingival overgrowth in the peri-implant region: a review and case report. *Dental Update*, 46(3), 280-284.
79. Armitage, G.C., (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology*, 4(1), 1-6.
80. Somacarrera, M., Hernandez, G., Acero J., and Moskow, B., (1994). Factors related to the incidence and severity of cyclosporin-induced gingival overgrowth in transplant patients. A longitudinal study. *Journal of Periodontology*, 65(7), 671-675.
81. Thomason, J., Seymour, R. and Rice, N., (1993). The prevalence and severity of cyclosporin and nifedipine-induced gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology*, 20(1), 37-40.
82. Sooriyamoorthy, M., Gower, D., and Eley, B., (1990). Androgen metabolism in gingival hyperplasia induced by nifedipine and cyclosporin. *Journal of Periodontal Research*, 25(1), 25-30.
83. Ishida, H., Kondoh, T., Kataoka, M., Nishikawa, S., Nakagawa, T., Morisaki, I., Kido, J.i., Oka, T., and Nagata, T., (1995). Factors influencing nifedipine-induced gingival overgrowth in rats. *Journal of Periodontology*, 66(5), 345-350.
84. Thomason, J.M., Seymour, R.A., Ellis, J.S., Kelly, P.J., Parry, G., Dark, J., and Idle, J.R., (1995). Iatrogenic gingival overgrowth in cardiac transplantation. *Journal of Periodontology*, 66(8), 742-746.
85. Guncu, G., Caglayan, F., Dinçel, A., Bozkurt, A., Ozmen, F., and Karabulut, E., (2007). Clinical and pharmacological variables as a risk factor for nifedipine-induced gingival overgrowth. *Australian Dental Journal*, 52(4), 295-299.

86. Barclay, S., Thomason, J., Idle, J., and Seymour, R., (1992). The incidence and severity of nifedipine-induced gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology*, 19(5), 311-314.
87. Jorgensen, M.G., (1997). Prevalence of amlodipine-related gingival hyperplasia. *Journal of Periodontology*, 68(7), 676-678.
88. Seymour, R.A., (2006). Effects of medications on the periodontal tissues in health and disease. *Periodontology 2000*, 40(1), 120-129.
89. Thomason, J.M., Seymour, R.A., Ellis, J.S., Kelly, P.J., Parry, G., Dark, J., Wilkinson, R., and Ilde, J.R., (1996). Determinants of gingival overgrowth severity in organ transplant patients: an examination of the role of HLA phenotype. *Journal of Clinical Periodontology*, 23(7), 628-634.
90. James, J., Marley, J., Jamal, S., Campbell, B., Short, C., Johnson, R., Hull, P., Spratt, H., Irwin, C., and Boomer, S., (2000). The calcium channel blocker used with cyclosporin has an effect on gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology*, 27(2), 109-115.
91. Daley, T., Wysocki, G., and Day, C., (1986). Clinical and pharmacologic correlations in cyclosporine-induced gingival hyperplasia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 62(4), 417-421.
92. Pernu, H., Knuuttila, M.E., Huttunen, K.H., and Tiilikainen, A.K., (1994). Drug-induced gingival overgrowth and class II major histocompatibility antigens. *Transplantation*, 57(12), 1811-1813.
93. Ayanoglou, C. and Lesty, C., (1999). Cyclosporin A-induced gingival overgrowth in the rat: a histological, ultrastructural and histomorphometric evaluation. *Journal of Periodontal Research*, 34(1), 7-15.
94. Kataoka, M., Shimizu, Y., Kunikiyo, K., Asahara, Y., Azuma, H., Sawa, T., Kido, J.i., and Nagata, T., (2001). Nifedipine induces gingival overgrowth in rats through a reduction in collagen phagocytosis by gingival fibroblasts. *Journal of Periodontology*, 72(8), 1078-1083.
95. Salo, T., Oikarinen, K.S., and Oikarinen, A.I., (1990). Effect of phenytoin and nifedipine on collagen gene expression in human gingival fibroblasts. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 19(9), 404-407.

96. Shikata, H., Utsumi, N., Shimojima, T., Oda, Y., and Okada, Y., (1993). Increased expression of type VI collagen genes in drug-induced gingival enlargement. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 334(1), 65-68.
97. Marshall, R.I. and Bartold, P.M., (1999). A clinical review of drug-induced gingival overgrowths. *Australian Dental Journal*, 44(4), 219-232.
98. Mariotti, A., (1999). Dental plaque-induced gingival diseases. *Annals of Periodontology*, 4(1), 7-17.
99. American Academy of Periodontology., (2004). Informational paper: drug-associated gingival enlargement. *Journal of Periodontology*, 75.
100. Ramírez-Rámiz, A., Brunet-Llobet, L., Lahor-Soler, E., and Miranda-Rius, J., (2017). On the cellular and molecular mechanisms of drug-induced gingival overgrowth. *The Open Dentistry Journal*, 11, 420.
101. Miranda, J., Brunet, L., Roset, P., Farré, M., and Mendieta, C., (2012). Reliability of two measurement indices for gingival enlargement. *Journal of Periodontal Research*, 47(6), 776-782.
102. Csiszar, A., Wiebe, C., Larjava, H., and Häkkinen, L., (2007). Distinctive molecular composition of human gingival interdental papilla. *Journal of Periodontology*, 78(2), 304-314.
103. Seymour, R., (1991). Calcium channel blockers and gingival overgrowth. *British Dental Journal*, 170(10), 376-379.
104. Sonmez, S., Cavdar, C., Gunduz, C., Nizam, N., Biray, C., Atila, K., and Camsari, T., (2008). Do MMP-1 levels of gingival fibroblasts have a role in the gingival overgrowth of cyclosporine-treated patients? *Transplantation Proceedings*, 40(1), 181-3
105. Charles, N., Ramesh, V., Babu, S.K., and Premalatha, B., (2012). Gene polymorphism in amlodipine induced gingival hyperplasia: A case report. *Journal of Young Pharmacists*, 4(4), 287-289.
106. Dongari-Bagtzoglou, A., (2004). Research, Science and therapy committee, american academy of periodontology. Drug-associated gingival enlargement. *Journal of Periodontology*, 75, 1424-1431.
107. Jaiarj, N., (2003). Drug-induced gingival overgrowth. *Journal of the Massachusetts Dental Society*, 52(3), 16.

108. Nurmenniemi, P.K., Pernu, H.E., and Knuuttila, M.L., (2004). Mast cell subpopulations in gingival overgrowth induced by immunosuppressive and nifedipine medication. *Journal of Periodontology*, 75(7), 933-938.
109. Metcalfe, D.D., Baram, D., and Mekori, Y.A., (1997). Mast cells. *Physiological Reviews*, 77(4), 1033-1079.
110. Zhao, Z., Sugerman, P., Zhou, X., Walsh, L., and Savage, N., (2001). Mast cell degranulation and the role of T cell RANTES in oral lichen planus. *Oral Diseases*, 7(4), 246-251.
111. Basso, N. and Terragno, N.A., (2001). History about the discovery of the renin-angiotensin system. *Hypertension*, 38(6), 1246-1249.
112. Andrade Santos, P.P., Nonaka, C.F.W., Pinto, L.P., and Souza, L.B., (2011). Immunohistochemical expression of mast cell tryptase in giant cell fibroma and inflammatory fibrous hyperplasia of the oral mucosa. *Archives of Oral Biology*, 56(3), 231-237.
113. Silver, R.B., Reid, A.C., Mackins, C.J., Askwith, T., Schaefer, U., Herzlinger, D., and Levi, R., (2004). Mast cells: a unique source of renin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(37), 13607-13612.
114. Peach, M.J., (1977). Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. *Physiological Reviews*, 57(2), 313-370.
115. Dzau, V.J., (1994). Cell biology and genetics of angiotensin in cardiovascular disease. *Journal of hypertension. Supplement: official journal of the International Society of Hypertension*, 12(4), S3-10.
116. Ehlers, M.R. and Riordan, J.F., (1989). Angiotensin-converting enzyme: new concepts concerning its biological role. *Biochemistry*, 28(13), 5311-5318.
117. Sume, S.S., Kantarci, A., Lee, A., Hasturk, H., and Trackman, P.C., (2010). Epithelial to mesenchymal transition in gingival overgrowth. *The American Journal of Pathology*, 177(1), 208-218.
118. Dongari-Bagtzoglou, A., (2004). Academy report. Informational paper. Drug-induced gingival enlargement. *Journal of Periodontology*, 75, 1424-1431.
119. Fatt, P. and Katz, B., (1953). The electrical properties of crustacean muscle fibres. *The Journal of Physiology*, 120(1-2), 171-204.

120. Fleckenstein, A., (1983). History of calcium antagonists. *Circulation Research*, 52(2), 13-16.
121. Marshall, R. and Bartold, P., (1998). Medication induced gingival overgrowth. *Oral Diseases*, 4(2), 130-151.
122. Nayler, W.G. and Dillon, J., (1986). Calcium antagonists and their mode of action: an historical overview. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 21(2), 97-107.
123. Hagiwara, N., Irisawa, H., and Kameyama, M., (1988). Contribution of two types of calcium currents to the pacemaker potentials of rabbit sino-atrial node cells. *The Journal of Physiology*, 395(1), 233-253.
124. Kayaalp, SO., (2002). *Kalsiyum Kanal Blokörleri ve ACE inhibitörleri*. (10. Baskı). Ankara: Hacettepe Taş Kitabevi, 442-52.
125. Sica, D.A., (2006). Pharmacotherapy review: calcium channel blockers. *The Journal of Clinical Hypertension*, 8(1), 53-56.
126. Akyüz, A., (2012). *Aliskiren ve amlodipinin birarada yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile miktar tayini*, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 5-7
127. Halici, Z., Borekci, B., Ozdemir, Y., Cadirci, E., and Suleyman, H., (2008). Protective effects of amlodipine and lacidipine on ovariectomy-induced bone loss in rats. *European Journal of Pharmacology*, 579(1-3), 241-5.
128. Mason, R., Marche, P., and Hintze, T., (2003). Novel vascular biology of third-generation L-type calcium channel antagonists: ancillary actions of amlodipine. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23(12), 2155-2163.
129. Fischell, T.A. and Maheshwari, A., (2004). Current applications for nicardipine in invasive and interventional cardiology. *Journal of Invasive Cardiology*, 16(8):428-32.
130. Plosker, G.L. and Robinson, D.M, (2008). Amlodipine/ Valsartan. *Drugs*, 68(3), 373-381.
131. Malacco, E., Piazza, S., Scandiani, L., and Zoppi, A., (2004). Effects of valsartan/hydrochlorothiazide and amlodipine on ambulatory blood pressure and plasma norepinephrine levels in high-risk hypertensive patients. *Advances in Therapy*, 21(3), 149-161.
132. Salhanick, S.D. and Shannon, M.W., (2003). Management of calcium channel antagonist overdose. *Drug Safety*, 26(2), 65-79.

133. Kayaalp, S.O., (2005). *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. (11.Baskı). Ankara: Hacettepe Taş Kitabevi, 440-43.
134. Jukema, J.W. and Van Der Hoorn, J.W., (2004). Amlodipine and atorvastatin in atherosclerosis: a review of the potential of combination therapy. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 5(2), 459-468.
135. Kataoka, C., Egashira, K., Ishibashi, M. Inoue, S., Ni, W.,. Hiasa, K. i, Kitamoto, S., Usui, M., and Takeshita, A., (2004). Novel anti-inflammatory actions of amlodipine in a rat model of arteriosclerosis induced by long-term inhibition of nitric oxide synthesis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 286(2), H768-H774.
136. Yin, X., Polidano, E., Faverdin, C., and Marche, P., (2005). Role of L-type calcium channel blocking in epidermal growth factor receptor-independent activation of extracellular signal regulated kinase 1/2. *Journal of Hypertension*, 23(2), 337-350.
137. Maguin, B., Yachouh, J., and Goudot, P., (2004). Nicardipine-induced gingival hyperplasia: case report. *Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale*, 105(4), 219.
138. Banthia, R., Gupta, S., Banthia, P., Singh, P., Raje, S., and Kaur, N., (2014). Is periodontal health a predictor of drug-induced gingival overgrowth? A cross-sectional study. *Dental Research Journal*, 11(5), 579.
139. Livada, R. and Shiloah, J., (2014). Calcium channel blocker-induced gingival enlargement. *Journal of Human Hypertension*, 28(1), 10-14.
140. Gaur, S., and Agnihotri, R., (2018). Is dental plaque the only etiological factor in Amlodipine induced gingival overgrowth? A systematic review of evidence. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 10(6), 610-619.
141. Ellis, J., Seymour, R., Thomason, J.M., Monkman, S., and Idle, J., (1993). Gingival sequestration of amlodipine and amlodipine-induced gingival overgrowth. *The Lancet*, 341(8852), 1102-1103.
142. Ono, M., Tanaka, S., Takeuchi, R., Matsumoto, H., Okada, H., Yamamoto, H., Makiyama, Y., Hirayama, T., Sakamaki, T., and Fujii, A., (2010). Prevalence of amlodipine-induced gingival overgrowth. *International Journal of Oral-Medical Sciences*, 9(2), 96-100.

143. Bendtzen, K., (1994). Cytokines and natural regulators of cytokines. *Immunology Letters*, 43(1-2), 111-123.
144. Balkwill, F. and Burke, F., (1989). The cytokine network. *Immunology Today*, 10(9), 299-304.
145. Seymour, G.J. and Gemmell E., (2001). Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontologica Scandinavica*, 59(3), 167-173.
146. Oppenheim, J., Ruscetti, F., and Faltynek, O., (1991). *Cytokines in basic and clinical immunology*. (Seven edition). London: Prentice-Hall, 78-98.
147. Bidwell, J., Keen, L., Gallagher, G., Kimberly, R., Huizinga, T., McDermott, M., Oksenberg, J., McNicholl, J., Pociot, F., and Hardt, C., (1999). Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes & immunity*, 1(1), 3-19.
148. Okada, H. and Murakami, S., (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 9(3), 248-266.
149. Isomäki, P. and Punnonen, J., (1997). Pro-and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. *Annals of Medicine*, 29(6), 499-507.
150. Hasturk, H., Kantarci, A., and Van Dyke, T.E., (2012). Oral inflammatory diseases and systemic inflammation: role of the macrophage. *Frontiers in Immunology*, 3, 118.
151. Ara, T., Kurata, K., Hirai, K., Uchihashi, T., Uematsu, T., Imamura, Y., Furusawa, K., Kurihara, S., and Wang, P.L., (2009). Human gingival fibroblasts are critical in sustaining inflammation in periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 44(1), 21-27.
152. Baggiolini, M., (2001). Chemokines in pathology and medicine. *Journal of Internal Medicine*, 250(2), 91-104.
153. Yadav, A., Saini, V., and Arora, S., (2010). MCP-1: chemoattractant with a role beyond immunity: a review. *Clinica Chimica Acta*, 411(21-22), 1570-1579.
154. Lukacs, N.W., (2001). Role of chemokines in the pathogenesis of asthma. *Nature Reviews Immunology*, 1(2), 108-116.
155. Deshmane, S.L., Kremlev, S., Amini, S., and Sawaya, B.E., (2009). Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 29(6), 313-326.

156. Rot, A. and Von Andrian, U.H., (2004). Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokines grammar for immune cells. *Annual Review of Immunology*, 22, 891-928.
157. Callewaere, C., Banisadr, G., Rostene, W., and Parsadaniantz, S.P.M.I., (2007). Chemokines and chemokine receptors in the brain: implication in neuroendocrine regulation. *Journal of Molecular Endocrinology*, 38(3), 355-363.
158. Colditz, I.G., Schneider M.A., Pruenster, M., and Rot, A., (2007). Chemokines at large: in-vivo mechanisms of their transport, presentation and clearance. *Thrombosis and Haemostasis*, 97(05), 688-693.
159. Baggiolini, M. and Loetscher, P., (2000). Chemokines in inflammation and immunity. *Immunology Today*, 21(9), 418-420.
160. Moser, B., Wolf, M., Walz, A., and Loetscher, P., (2004). Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends in Immunology*, 25(2), 75-84.
161. Gerard, C. and Rollins, B.J., (2001). Chemokines and disease. *Nature Immunology*, 2(2), 108-115.
162. Moser, B. and Loetscher, P., (2001). Lymphocyte traffic control by chemokines. *Nature Immunology*, 2(2), 123-128.
163. Van Coillie, E., Van Damme, J., and Opdenakker, G., (1999). The MCP/eotaxin subfamily of CC chemokines. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 10(1), 61-86.
164. Murphy, P.M., Baggiolini, M., Charo, I.F., Hébert, C.A., Horuk, R., Matsushima, K., Miller, L.H., Oppenheim, J.J., and Power, C.A., (2000). International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacological Reviews*, 52(1), 145-176.
165. Clark-Lewis, I., Schumacher, C., Baggiolini, M., and Moser, B., (1991). Structure-activity relationships of interleukin-8 determined using chemically synthesized analogs. Critical role of NH₂-terminal residues and evidence for uncoupling of neutrophil chemotaxis, exocytosis, and receptor binding activities. *Journal of Biological Chemistry*, 266(34), 23128-23134.
166. Thelen, M., (2001). Dancing to the tune of chemokines. *Nature Immunology*, 2(2), 129-134.
167. Clark, R.A., (2013). *The molecular and cellular biology of wound repair*. (Second Edition). Boston: Springer Science & Business Media, 373-75

168. Sodek, J. and Ferrier, J.M., (1988). Collagen remodelling in rat periodontal tissues: compensation for precursor reutilization confirms rapid turnover of collagen. *Collagen and Related Research*, 8(1), 11-21.
169. Arora, P.D., Silvestri, L., Ganss, B., Sodek, J., and McCulloch, C.A., (2001). Mechanism of cyclosporin-induced inhibition of intracellular collagen degradation. *Journal of Biological Chemistry*, 276(17), 14100-14109.
170. Carswell, E., Old, L.J., Kassel, R., Green, S., Fiore, N., and Williamson, B., (1975). An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(9), 3666-3670.
171. Pennica, D., Hayflick, J.S., Bringman, T.S., Palladino, M.A., and Goeddel, D.V., (1985). Cloning and expression in *Escherichia coli* of the cDNA for murine tumor necrosis factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(18), 6060-6064.
172. Kindle, L., Rothe, L., Kriss, M., Osdoby, P., and Collin-Osdoby, P., (2006). Human microvascular endothelial cell activation by IL-1 and TNF- α stimulates the adhesion and transendothelial migration of circulating human CD14⁺ monocytes that develop with RANKL into functional osteoclasts. *Journal of Bone and Mineral Research*, 21(2), 193-206.
173. Bodmer, J.-L., Schneider, P., and Tschopp, J., (2002). The molecular architecture of the TNF superfamily. *Trends in Biochemical Sciences*, 27(1), 19-26.
174. Bradley, J., (2008). TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 214(2), 149-160.
175. Gokul, K., (2012). Estimation of the level of tumor necrosis factor- α in gingival crevicular fluid and serum in periodontal health and disease: a biochemical study. *Indian Journal of Dental Research*, 23(3), 348.
176. Sunnarborg, S.W., Hinkle, C.L., Stevenson, M., Russell, W.E., Raska, C.S., Peschon, J.J., Castner, B.J., Gerhart, M.J., Paxton, R.J., and Black, R.A., (2002). Tumor necrosis factor- α converting enzyme (TACE) regulates epidermal growth factor receptor ligand availability. *Journal of Biological Chemistry*, 277(15), 12838-12845.
177. Robak, T., Gladalska, A., and Stepień, H., (1998). The tumour necrosis factor family of receptors/ligands the serum of patients with rheumatoid arthritis. *European Cytokine Network*, 9(2), 145-54.

178. Bouwmeester, T., Bauch, A., Ruffner, H., Angrand, P.O., Bergamini, G., Coughton, K., Cruciat, C., Eberhard, D., Gagneur, J., and Ghidelli, S., (2004). A physical and functional map of the human TNF- α /NF- κ B signal transduction pathway. *Nature Cell Biology*, 6(2), 97-105.
179. Bradley, J.R. and Pober, J.S., (1996). Prolonged cytokine exposure causes a dynamic redistribution of endothelial cell adhesion molecules to intercellular junctions. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 75(4), 463-472.
180. Baud, V. and Karin, M., (2001). Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends in Cell Biology*, 11(9), 372-377.
181. Van Dyke, T.E. and Van Winkelhoff, A.J., (2013). Infection and inflammatory mechanisms. *Journal of Clinical Periodontology*, 40, S1-S7.
182. Hernández, M., Dutzan, N., García-Sesnich, J., Abusleme, L., Dezerega, A., Silva, N., Gamonal, J., (2011). *Journal of Dental Research*, 1164-1170.
183. Casarin, R., Del Peloso Ribeiro, É., Mariano, F., Nociti Jr, F., Casati, M., and Gonçalves, R., (2010). Levels of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, inflammatory cytokines and species-specific immunoglobulin G in generalized aggressive and chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 45(5), 635-642.
184. Flynn, J.L., Goldstein, M.M., Chan, J. Triebold, K.J., Pfeffer, K., Lowenstein, C.J., Schreiber, R., Mak, T.W., and Bloom, B.R., (1995). Tumor necrosis factor- α is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Immunity*, 2(6), 561-572.
185. Rossomando, E., Kennedy, J., and Hadjimichael, J., (1990). Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Archives of Oral Biology*, 35(6), 431-434.
186. Drugărin, D., Onisei, D., Koreck, A., Negru, S., and Drugărin, M., (1998). Proinflammatory cytokines production and PMN-elastase release from activated PMN cells in the periodontal disease. *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology*, 57(3-4), 295-307.

187. Alzahrani, A.S., Bissada, N.F., Jurevic, R.J., Narendran, S., Nouneh, I.E., and Al-Zahrani, M.S., (2013). Reduced systemic inflammatory mediators after treatment of chronic gingivitis. *Saudi Medical Journal*, 34(4), 415-419.
188. Zhang, Q., Chen, B., Zhu, D., and Yan, F., (2016). Biomarker levels in gingival crevicular fluid of subjects with different periodontal conditions: A cross-sectional study. *Archives of Oral Biology*, 72, 92-98.
189. Lavu, V., Venkatesan, V., Venugopal, P., Lakkakula, B.V.K.S., Paul, S.F.D., Peria, K., and Rao, S.R., (2017). Clinical relevance of cytokines gene polymorphisms and protein levels in gingival cervical fluid from chronic periodontitis patients. *Iranian Journal of Immunology*, 14(1), 51-58.
190. Fujita, Y., Ito, H. Sekino, S., and Numabe, Y., (2012). Correlations between pentraxin 3 or cytokine levels in gingival crevicular fluid and clinical parameters of chronic periodontitis. *Odontology*, 100(2), 215-221.
191. Zlotnik, A. and Yoshie, O., (2012). The chemokine superfamily revisited. *Immunity*, 36(5), 705-716.
192. Nomiyama, H., Imai, T., Kusuda, J., and Miura, R., (1998). Human chemokines fractalkine (SCYD1), MDC (SCYA22) and TARC (SCYA17) are clustered on chromosome 16q13. *Cytogenetic and Genome Research*, 81(1), 10.
193. Kim, K.W., Vallon-Eberhard A., Zigmond, E., Farache, J., Shezen, E., Shakhar, G., Ludwig, A., Lira, S.A., and Jung, S., (2011). In vivo structure/function and expression analysis of the CX3C chemokine fractalkine. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 118(22), e156-e167.
194. Umehara, H., Bloom, E.T., Okazaki, T., Nagano, Y., Yoshie, O., and Imai, T., (2004). Fractalkine in vascular biology: from basic research to clinical disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 24(1), 34-40.
195. Hundhausen, C., Schulte, A., Schulz, B., Andrzejewski, M.G., Schwarz, N., Von Hundelshausen, P., Winter, U., Paliga, K., Reiss, K., and Saftig, P., (2007). Regulated shedding of transmembrane chemokines by the disintegrin and metalloproteinase 10 facilitates detachment of adherent leukocytes. *The Journal of Immunology*, 178(12), 8064-8072.
196. Wojdasiewicz, P., Poniatowski, Ł.A., Kotela, A., Deszczyński, J., Kotela, I., and Szukiewicz, D. (2014). The chemokine CX3CL1 (fractalkine) and its receptor CX3CR1:

- occurrence and potential role in osteoarthritis. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 62(5), 395-403.
197. Volin, M.V., Huynh, N., Klosowska, K., Reyes, R.D., and Woods, J.M., (2010). Fractalkine-induced endothelial cell migration requires MAP kinase signaling. *Pathobiology*, 77(1), 7-16.
 198. Imaizumi, T., Yoshida, H., and Satoh, K., (2004). Regulation of CX3CL1/fractalkine expression in endothelial cells. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 11(1), 15-21.
 199. Zhu, X., Song, Y., Zhang, Q., Cao, Y., Xu, W., and Su, D., (2011). Effects of fractalkine on the expression of inflammatory substances in LPS-activated microglia cells. *Xi bao yu fen zi mian yi xue za zhi= Chinese journal of Cellular and Molecular Immunology*, 27(12), 1298-1300.
 200. Zujovic, V., Benavides, J., Vigé, X., Carter, C., and Taupin, V., (2000). Fractalkine modulates TNF- α secretion and neurotoxicity induced by microglial activation. *Glia*, 29(4), 305-315.
 201. Cambien, B.A., Pomeranz, M., Schmid-Antomarchi, H., Millet, M. A., Breittmayer, V., Rossi, B., and Schmid-Alliana, A., (2001). Signal transduction pathways involved in soluble fractalkine-induced monocytic cell adhesion. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 97(7), 2031-2037.
 202. Yoshie, O., Imai, T., and Nomiyama, H., (2001) Chemokines in immunity. *Advances in immunology*, 78: 57-110.
 203. Murdoch, C. and Finn, A., (2000). Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 95(10), 3032-3043.
 204. Garcia, G.E., Xia, Y., Chen, S., Wang, Y., Ye, R.D., Harrison, J.K., Bacon, K.B., Zerwes, H.G., and Feng, L., (2000). NF- κ B-dependent fractalkine induction in rat aortic endothelial cells stimulated by IL-1 β , TNF- α , and LPS. *Journal of Leukocyte Biology*, 67(4), 577-584.
 205. Imai, T., Hieshima, K., Haskell, C., Baba, M., Nagira, M., Nishimura, M., Kakizaki, M., Takagi, S., Nomiyama, H., and Schall, T.J., (1997). Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion. *Cell*, 91(4), 521-530.

206. Mizoue, L.S., Bazan, J.F., Johnson, E.C., and Handel, T.M., (1999). Solution structure and dynamics of the CX3C chemokine domain of fractalkine and its interaction with an N-terminal fragment of CX3CR1. *Biochemistry*, 38(5), 1402-1414.
207. Nakayama, T., Watanabe, Y., Oiso, N., Higuchi, T., Shigeta, A., Mizuguchi, N., Katou, F., Hashimoto, K., Kawada, A., and Yoshie, O., (2010). Eotaxin-3/CC chemokine ligand 26 is a functional ligand for CX3CR1. *The Journal of Immunology*, 185(11), 6472-6479.
208. Fraticelli, P., Sironi, M., Bianchi, G., D'Ambrosio, D., Albanesi, C., Stoppacciaro, A., Chieppa, M., Allavena, P., Ruco, L., and Girolomoni, G., (2001). Fractalkine (CX3CL1) as an amplification circuit of polarized Th1 responses. *The Journal of Clinical Investigation*, 107(9), 1173-1181.
209. Shresta, S., Pham, C.T., Thomas, D.A., Graubert, T.A., and Ley, T.J., (1998). How do cytotoxic lymphocytes kill their targets? *Current Opinion in Immunology*, 10(5), 581-587.
210. Nishimura, M., Umehara, H., Nakayama, T., Yoneda, O., Hieshima, K., Kakizaki, M., Dohmae, N., Yoshie, O., and Imai, T., (2002). Dual functions of fractalkine/CX3C ligand 1 in trafficking of perforin+/granzyme B+ cytotoxic effector lymphocytes that are defined by CX3CR1 expression. *The Journal of Immunology*, 168(12), 6173-6180.
211. Hosokawa, Y., Nakanishi, T., Yamaguchi, D., Nakae, H., and Matsuo, T., (2005). Expression of fractalkine (CX3CL1) and its receptor, CX3CR1, in periodontal diseased tissue. *Clinical & Experimental Immunology*, 139(3), 506-512.
212. Jones, B.A., Beamer, M., and Ahmed, S., (2010). Fractalkine/CX3CL1: a potential new target for inflammatory diseases. *Molecular Interventions*, 10(5), 263.
213. Yoneda, O., Imai, T., Goda, S., Inoue, H., Yamauchi, A., Okazaki, T., Imai, H., Yoshi, O.E., Bloom, E.T., and Domae, N., (2000). Fractalkine-mediated endothelial cell injury by NK cells. *The Journal of Immunology*, 164(8), 4055-4062.
214. Lanier, L.L., Corliss, B., and Phillips, J.H., (1997). Arousal and inhibition of human NK cells. *Immunological Reviews*, 155(1), 145-154.
215. Moon, S. O., Kim, W., Sung, M.J., Lee, S., Kang, K.P., Kim, D.H., Lee, S.Y., So, J. N, and Park, S.K., (2006). Resveratrol suppresses tumor necrosis factor- α -induced fractalkine expression in endothelial cells. *Molecular pharmacology*, 70(1), 112-119.

216. Brasier, A.R., (2006). The NF- κ B regulatory network. *Cardiovascular Toxicology*, 6(2), 111-130.
217. Paludan, S.R., (2000). Synergistic action of pro-inflammatory agents: cellular and molecular aspects. *Journal of Leukocyte Biology*, 67(1), 18-25.
218. Matsumiya, T., Ota, K., Imaizumi, T., Yoshida, H., Kimura, H., and Satoh, K., (2010). Characterization of synergistic induction of CX3CL1/fractalkine by TNF- α and IFN- γ in vascular endothelial cells: an essential role for TNF- α in post-transcriptional regulation of CX3CL1. *The Journal of Immunology*, 184(8), 4205-4214.
219. Yoshida, H., Imaizumi, T., Fujimoto, K., Matsuo, N., Kimura, K., Cui, X. F., Matsumiya, T., Tanji, K., Shibata, T., and Tamo, W., (2001). Synergistic stimulation, by tumor necrosis factor- α and interferon- γ , of fractalkine expression in human astrocytes. *Neuroscience Letters*, 303(2), 132-136.
220. Goda, S., Imai, T., Yoshie, O., Yoneda, O., Inoue, H., Nagano, Y., Okazaki, T., Imai, H., Bloom, E.T., and Domae, N., (2000). CX3C-chemokine, fractalkine-enhanced adhesion of THP-1 cells to endothelial cells through integrin-dependent and-independent mechanisms. *The Journal of Immunology*, 164(8), 4313-4320.
221. Foussat, A., Bouchet-Delbos, L., Berrebi, D., Durand-Gasselin, I., Coulomb-L'Hermine, A., Krzysiek, R., Galanaud, P., Levy, Y., and Emilie, D., (2001). Deregulation of the expression of the fractalkine/fractalkine receptor complex in HIV-1-infected patients. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 98(6), 1678-1686.
222. Muehlhoefer, A., Saubermann, L.J., Gu, X., Luedtke-Heckenkamp, K., Xavier, R., Blumberg, R.S., Podolsky, D.K., MacDermott, R.P., and Reinecker, H.C., (2000). Fractalkine is an epithelial and endothelial cell-derived chemoattractant for intraepithelial lymphocytes in the small intestinal mucosa. *The Journal of Immunology*, 164(6), 3368-3376.
223. Wang, L., Sun, Z., Liu, L., and Peng, B., (2014). Expression of CX 3 CL 1 and its receptor, CX 3 CR 1, in the development of periapical lesions. *International Endodontic Journal*, 47(3), 271-279.
224. Pisoschi, C., Stanciulescu, C., and Banita, M., (2012). Growth factors and connective tissue homeostasis in periodontal disease. *Pathogenesis and treatment of periodontitis. London: InTech*, 55-80.

225. Roberts, A., (1992). McCune BK, and Sporn MB. *TGF- β : regulation of extracellular matrix. Kidney International*, 41, 557-559.
226. Prime, S., Pring, M., Davies, M., and Paterson, I., (2004). TGF- β signal transduction in oro-facial health and non-malignant disease (part I). *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 15(6), 324-336.
227. Kisseleva, T. and Brenner, D.A., (2008). Fibrogenesis of parenchymal organs. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 5(3), 338-342.
228. Hong, H. H., Uzel, M.I., Duan, C., Sheff, M.C., and Trackman, P.C., (1999). Regulation of lysyl oxidase, collagen, and connective tissue growth factor by TGF-beta1 and detection in human gingiva. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 79(12), 1655-1667.
229. Wynn, T.A., (2008). Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 214(2), 199-210.
230. Schuppan, D., Ruehl, M., Somasundaram, R., Hahn, E.G., (2001). *Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. in Seminars in Liver Disease*, 351-72
231. Corrêa, J.D., Queiroz-Junior, C.M., Costa, J.E., Teixeira, A.L., and. Silva, T.A, (2011). Phenytoin-induced gingival overgrowth: a review of the molecular, immune, and inflammatory Features. *International Scholarly Research Notices Dentistry*. 497850.
232. Spolidorio, L.C., Gonzaga, H.F.D.S., and Spolidorio, D.M., (2000). Quantitative analysis of gingival tissues of rats treated with phenytoin and cyclosporine. *Pesquisa Odontológica Brasileira*, 14(4), 327-333.
233. Lin, K., Guilhoto, L.M., and Yacubian, E.M.T., (2007). Drug-induced gingival enlargement-Part II. Antiepileptic drugs: Not only phenytoin is involved. *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology*, 13(2), 83-88.
234. Leask, A. and Abraham, D.J., (2003). The role of connective tissue growth factor, a multifunctional matricellular protein, in fibroblast biology. *Biochemistry and Cell Biology*, 81(6), 355-363.
235. Duncan, M.R., Frazier, K.S., Abramson, S., Williams, S., Klapper, H., Huang, X., and Grotendorst, G.R., (1999). Connective tissue growth factor mediates transforming growth factor β -induced collagen synthesis: down-regulation by cAMP. *The FASEB Journal*, 13(13), 1774-1786.

236. Holbourn, K.P., Acharya, K.R., and Perbal, B., (2008). The CCN family of proteins: structure–function relationships. *Trends in Biochemical Sciences*, 33(10), 461-473.
237. Kantarci, A., Black, S.A., Xydias, C.E., Murawel, P., Uchid, Y.A, Yucekal-Tunce, B.R, Atilla, G., Emingil, G., Uzel, M.I., and Lee, A., (2006). Epithelial and connective tissue cell CTGF/CCN2 expression in gingival fibrosis. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 210(1), 59-66.
238. Frazier, K., Williams, S., Kothapalli, D., Klapper, H., and Grotendorst, G.R., (1996). Stimulation of fibroblast cell growth, matrix production, and granulation tissue formation by connective tissue growth factor. *Journal of Investigative Dermatology*, 107(3), 404-411.
239. Pisoschi, C., Stănciulescu, C., Munteanu, C., Fusaru, A.M., and Baniță, M., (2012). Evidence for the epithelial mesenchymal transition as a pathogenic mechanism of phenytoininduced gingival overgrowth, *Farmacia*. 2, 168-75.
240. Kantarci, A., Augustín, P., Firatli, E., Sheff, M.C., Hasturk, H., Graves, D.T, and Trackman, P.C., (2007). Apoptosis in gingival overgrowth tissues. *Journal of Dental Research*, 86(9), 888-892.
241. Arora, P.D. and McCulloch, C.A., (1999). The deletion of transforming growth factor- β -induced myofibroblasts depends on growth conditions and actin organization. *The American Journal of Pathology*, 155(6), 2087-2099.
242. Masur, S., Dewal, H., Dinh, T., Erenburg, I., and Petridou, S., (1996). Myofibroblasts differentiate from fibroblasts when plated at low density. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(9), 4219-4223.
243. Adegboyega, P.A., Mifflin, R.C., DiMari, J.F., Saada, J.I., and Powell, D.W., (2002). Immunohistochemical study of myofibroblasts in normal colonic mucosa, hyperplastic polyps, and adenomatous colorectal polyps. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 126(7), 829-836.
244. Shulrch, W., Seenarer, T., and Gabbiani, G.. (1997). *Histology for pathologist. (Second edition)*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers. 129-65
245. Yamasaki, A., Rose, G., Pinero, G., and Mahan, C., (1987). Ultrastructure of fibroblasts in cyclosporin A-induced gingival hyperplasia. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 16(3), 129-134.

246. Zhang, H.Y. and Phan, S.H., (1999). Inhibition of myofibroblast apoptosis by transforming growth factor β 1. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 21(6), 658-665.
247. Biernacka, A., Dobaczewski, M., and Frangogiannis, N.G., (2011). TGF- β signaling in fibrosis. *Growth factors*. 29(5), 196-202.
248. Ebersole, J.L., (2003). Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontology 2000*, 31(1), 135-166.
249. Pöllänen, M.T., Salonen, J.I., and Uitto, V.J., (2003). Structure and function of the tooth–epithelial interface in health and disease. *Periodontology 2000*, 31(1), 12-31.
250. Goodson, J.M., (2003). Gingival crevice fluid flow. *Periodontology 2000*, 31(1), 43-54.
251. Griffiths, G.S., (2003). Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*, 31(1), 32-42.
252. Hatipoğlu, H., Yamalik, N., Berberoğlu, A., and Eratalay, K., (2007). Impact of the distinct sampling area on volumetric features of gingival crevicular fluid. *Journal of Periodontology*, 78(4), 705-715.
253. Armitage, G.C., (1995). Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 7(1), 39-53.
254. Emingil, G., Çınarcık, S., Baylas, H., Çoker, I., and Hüseyinov, A., (2001). Levels of leukotriene B4 in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, 72(8), 1025-1031.
255. Perozini, C., Chibebe, P.C., Leão, M.V.P., Da Silva Queiroz, C., and Pallos, D., (2010). Gingival crevicular fluid biochemical markers in periodontal disease: A cross-sectional study. *Quintessence International*, 41(10).
256. Cimasoni, G., (1983). Crevicular fluid updated. *Monograph in Oral Sciences*, 12, 24-28, 104-123.
257. Gupta, G., (2013). Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator-II: Inflammatory mediators, host-response modifiers and chair side diagnostic aids. *Journal of Medicine and Life*, 6(1), 7.
258. Delima, A.J. and Van Dyke, T.E., (2003). Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*, 31(1), 55-76.

259. Gupta, G., (2012). Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator-I: Host derived enzymes and tissue breakdown products. *Journal of Medicine and Life*, 5(4), 390.
260. Uitto, V.J., (2003). Gingival crevice fluid—an introduction. *Periodontology 2000*, 31(1), 9-11.
261. Ellis, J., Seymour, R., Monkman, S., and Idle, J., (1993). Disposition of nifedipine in plasma and gingival crevicular fluid in relation to drug-induced gingival overgrowth. *Journal of Periodontal Research*, 28(5), 373-378.
262. Tözüm, T.F., Yildirim, A., Çağlayan, F., Dinçel, A., and Bozkurt, A., (2004). Serum and gingival crevicular fluid levels of ciprofloxacin in patients with periodontitis. *The Journal of the American Dental Association*, 135(12), 1728-1732.
263. Brown, T.A., (2009). Gen Klonlama ve DNA Analizi. Polimeraz Zincir Reaksiyonu. (çev. Bardakçı F., Yenidünya A.F., Yılmaz N.). 5. baskı. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım. 210-215.
264. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, K.J., and Williams, P.M., (1996). Real time quantitative PCR. *Genome Research*, 6(10), 986-994.
265. Yamazaki, K., Nakajima, T., Kubota, Y., Gemmell, E., Seymour, G, and Hara, K., (1997). Cytokine messenger RNA expression in chronic inflammatory periodontal disease. *Oral Microbiology and Immunology*, 12(5), 281-287.
266. Kubista, M., Andrade, J.M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., Sindelka, R., Sjöback, R., Sjögreen, B., and Strömbom, L., (2006). The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(2-3), 95-125.
267. Seymour, R., Smith, D., and Turnbull, D., (1985). The effects of phenytoin and sodium valproate on the periodontal health of adult epileptic patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 12(6), 413-419.
268. Thomason, J.M., Seymour, R.A., and Rawlins, M.D., (1992). Incidence and severity of phenytoin-induced gingival overgrowth in epileptic patients in general medical practice. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 20(5), 288-291.
269. Angelopoulos, A. and Goaz, P., (1972). Incidence of diphenylhydantoin gingival hyperplasia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 34(6), 898-906.
270. Miller, C.S. and Damm, D.D., (1992). Incidence of verapamil-induced gingival hyperplasia in a dental population. *Journal of Periodontology*, 63(5), 453-456.

271. Miranda, J., Brunet, L., Roset, P., Berini, L., Farré M., and Mendieta, C. (2001). Prevalence and risk of gingival enlargement in patients treated with nifedipine. *Journal of Periodontology*, 72(5), 605-611.
272. Silness, J. and Löe, H., (1964). Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontologica Scandinavica*, 22(1), 121-135.
273. Löe, H. and Silness, J., (1963). Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontologica Scandinavica*, 21(6), 533-551.
274. Ainamo, J. and Bay, I., (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal*, 25(4), 229.
275. Ramfjord, S.P. and Nissle, R.R., (1974). The modified Widman flap. *Journal of Periodontology*, 45(8), 601-607
276. Trackman, P., and Kantarci, A., (2015). Molecular and clinical aspects of drug-induced gingival overgrowth. *Journal of Dental Research*, 94(4), 540-546.
277. Williamson, M.S., Miller, E.K., Plemons, J., Rees, T., and Iacopino, A.M., (1994). Cyclosporine A upregulates interleukin-6 gene expression in human gingiva: possible mechanism for gingival overgrowth. *Journal of Periodontology*, 65(10), 895-903.
278. Bulut, S., Alaaddinoglu, E.E., Bilezikç, B., Demirhan, B., and Moray, G., (2002). Immunohistochemical analysis of lymphocyte subpopulations in cyclosporin A-induced gingival overgrowth. *Journal of Periodontology*, 73(8), 892-899.
279. Pernu, H.E. and Knuuttila, M.L., (2001). Macrophages and lymphocyte subpopulations in nifedipine-and cyclosporin A-associated human gingival overgrowth. *Journal of Periodontology*, 72(2), 160-166.
280. Giannobile, W.V., (2008). Host-response therapeutics for periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, 79, 1592-1600.
281. Page, R.C., (1998). The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Annals of Periodontology*, 3(1), 108-120.
282. Shaw, L. and Murray, I., (1977). Diagnostic reproducibility of periodontal indices. *Journal of Periodontal Research*, 12(3), 141-147.

283. Lang, N.P., Joss, A., Orsanic, T., Gusberti, F.A., and Siegrist, B.E., (1986). Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? *Journal of Clinical Periodontology*, 13(6), 590-596.
284. Kose, K., Yilmaz, S., Noyan, U., Kuru, B., Yildirim, H., Agrali, O., Ozener, H., and Kuru, L., (2020). The gingival crevicular fluid levels of growth factors in patients with amlodipine-induced gingival overgrowth: A pilot study. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 23(4), 561.
285. Xiang, X., Liu, K., Man, A., Ghiabi, E., Cholakis, A., and Scott, D., (2010). Periodontitis-specific molecular signatures in gingival crevicular fluid. *Journal of Periodontal Research*, 45(3), 345-352.
286. Teles, R., Sakellari, D., Teles, F., Konstantinidis, A., Kent, R., Socransky, S., and Haffajee, A., (2010). Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. *Journal of Periodontology*, 81(1), 89-98.
287. Yamalik, N., Çağlayan, F., Kiliç, K., Kiliç, A., and Tümer, C., (2000). The importance of data presentation regarding gingival crevicular fluid myeloperoxidase and elastase-like activity in periodontal disease and health status. *Journal of Periodontology*, 71(3), 460-467.
288. Huynh, C., Roch-Arveiller, M., Meyer, J., and Giroud, J., (1992). Gingival crevicular fluid of patients with gingivitis or periodontal disease: evaluation of elastase- α , proteinase inhibitor complex. *Journal of Clinical Periodontology*, 19(3), 187-192.
289. Gupta, M., Chaturvedi, R., and Jain, A., (2013). Role of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) as an immune-diagnostic biomarker in the pathogenesis of chronic periodontal disease. *Cytokine*, 61(3), 892-897.
290. Özkavaf, A., Aras, H., Huri, C.B, Mottaghian-Dini, F., Tözüm, T.F., Etikan, I., Yamalik, N., and Çağlayan, F., (2000). Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *Journal of Oral Science*, 42(4), 231-238.
291. Yano, R., Yamanura, M., Sunahori, K., Takasugi, K., Yamana, J., Kawashima, M., and Makino, H., (2007). Recruitment of CD16+ monocytes into synovial tissues is mediated by fractalkine and CX3CR1 in rheumatoid arthritis patients. *Acta Medica Okayama*, 61(2), 89-98.

292. Stashenko, P., Jandinski, J.J., Fujiyoshi, P., Rynar, J., and Socransky, S.S., (1991). Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 62(8), 504-509.
293. Groeger, S.E. and Meyle, J., (2015). Epithelial barrier and oral bacterial infection. *Periodontology 2000*, 69(1), 46-67.
294. Fung, D.Y., (2002). Predictions for rapid methods and automation in food microbiology. *Journal of Association of Official Analytical Chemists International*, 85(4), 1000-1002.
295. Horiuchi, K., Amizuka, N. Takeshita, S., Takamatsu, H., Katsuura, M., Ozawa, H., Toyama, Y., Bonewald, L.F., and Kudo, A., (1999). Identification and characterization of a novel protein, periostin, with restricted expression to periosteum and periodontal ligament and increased expression by transforming growth factor β . *Journal of Bone and Mineral Research*, 14(7), 1239-1249.
296. Hirose, M., Ishihara, K., Saito, A., Nakagawa, T., Yamada, S., and Okuda, K., (2001). Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *Journal of Periodontology*, 72(5), 590-597.
297. Hall, J., Pehrson, N.G., Ekestubbe, A., Jemt, T., and Friberg, B. (2015). A controlled, cross-sectional exploratory study on markers for the plasminogen system and inflammation in crevicular fluid samples from healthy, mucositis and peri-implantitis sites. *European Journal of Dental Implantology*, 8(2), 153-66.
298. Mardegan, G.P., Shibli, J.A., Roth, L.A., Faveri, M., Giro, G., and Bastos, M.F., (2017). Transforming growth factor- β , interleukin-17, and IL-23 gene expression profiles associated with human peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*, 28(7), e10-e15.
299. Lee, Y.-H. and Wong, D.T., (2009). Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *American Journal Of Dentistry*, 22(4), 241.
300. Steinhauer, T., Bsoul, S.A., and Terezhalmay, G.T., (2005). Risk stratification and dental management of the patient with cardiovascular diseases. Part I: Etiology, epidemiology, and principles of medical management. *Quintessence International*, 36(2):119-37

301. Seymour, R. and Smith, D., (1991). The effect of a plaque control programme on the incidence and severity of cyclosporin-induced gingival changes. *Journal of Clinical Periodontology*, 18(2), 107-110.
302. Camargo, P.M., Melnick, P.R., Pirih, F.Q., Lagos, R., and Takei, H.H., (2001). Treatment of drug-induced gingival enlargement: aesthetic and functional considerations. *Periodontology 2000*, 27(1), 131-138.
303. Heijl, L. and Sundin, Y., (1989). Nitrendipine–Induced Gingival Overgrowth in Dogs. *Journal of Periodontology*, 60(2), 104-112.
304. Pernu, H.E., Pernu, L.H., Huttunen, K.R., Nieminen, P.A., and Knuuttila, M.L., (1992). Gingival overgrowth among renal transplant recipients related to immunosuppressive medication and possible local background factors. *Journal of Periodontology*, 63(6), 548-553.
305. Guo, J., Wang, W., Yao L., and Yan, F., (2008). Local inflammation exacerbates cyclosporine a-induced gingival overgrowth in rats. *Inflammation*, 31(6), 399-407.
306. Takeuchi, R., Matsumoto, H., Akimoto, Y., and Fujii, A., (2011). Reduction in lipopolysaccharide-induced apoptosis of fibroblasts obtained from a patient with gingival overgrowth during nifedipine-treatment. *Archives of Oral Biology*, 56(10), 1073-1080.
307. Gopal, S., Joseph, R., Santhosh, V.C., Kumar, V.V.H., Joseph, S., and Shete, A.R., (2015). Prevalence of gingival overgrowth induced by antihypertensive drugs: A hospital-based study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 19(3), 308.
308. Pasupuleti, M.K., Musalaiah, S., Nagasree M., and Kumar, P.A., (2013). Combination of inflammatory and amlodipine induced gingival overgrowth in a patient with cardiovascular disease. *Avicenna Journal of Medicine*, 3(3), 68.
309. Kataoka, M., Kido, J. i., Shinohara, Y., and Nagata, T., (2005). Drug-induced gingival overgrowth—a review. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(10), 1817-1821.
310. Seymour, R. and Jacobs, D., (1992). Cyclosporin and the gingival tissues. *Journal of Clinical Periodontology*, 19(1), 1-11.
311. Aimetti, M., Romano, F., Marsico, A., and Navone, R., (2008). Non-surgical periodontal treatment of cyclosporin A-induced gingival overgrowth: immunohistochemical results. *Oral Diseases*, 14(3), 244-250.

312. McLaughlin, W., Ball, D., Seymour, R., Kamali, F., and White, K., (1995). The pharmacokinetics of phenytoin in gingival crevicular fluid and plasma in relation to gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology*, 22(12), 942-945.
313. Ball, D., McLaughlin, W., Seymour, R., and Kamali, F., (1996). Plasma and saliva concentrations of phenytoin and 5-(4-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin in relation to the incidence and severity of phenytoin-induced gingival overgrowth in epileptic patients. *Journal of Periodontology*, 67(6), 597-602.
314. Charo, I.F. and Ransohoff, R.M., (2006). The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *New England Journal of Medicine*, 354(6), 610-621.
315. Subramani, T., Dhanaraj, L., Senthilkumar, K., Periasamy, S., Abraham, G., and Rao, S., (2010). Expression of TNF- α and RANTES in drug-induced human gingival overgrowth. *Indian Journal of Pharmacology*, 42(3), 174.
316. Andrukhov, O., Ulm, C., Reischl, H., Nguyen, P.Q., Matejka, M., and Rausch-Fan, X., (2011). Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. *Journal of Periodontology*, 82(6), 885-892.
317. Ertugrul, A., Sahin, H., Dikilitas, A., Alpaslan, N., and Bozoglan, A., (2013). Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 β and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 48(1), 44-51.
318. Lomba, K.S.B., De Souza Breves, T.F.C., Sete, M.R.C., Pires, F.R., and Da Silva Figueredo, C.M., (2015). Use of minimally invasive gingival biopsies in the study of inflammatory mediators expression and their correlation with gingival fluid in patients with chronic periodontitis. *Indian Journal of Dental Research*, 26(2), 126.
319. Sjögren, F. and Anderson, C.D., (2010). Are cutaneous microdialysis cytokine findings supported by end point biopsy immunohistochemistry findings? *The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 12(4), 741-749.
320. Adibrad, M., Deyhimi, P., Ganjalikhani Hakemi, M., Behfarnia, P., Shahabue, M.i, and Rafiee, L., (2012). Signs of the presence of Th17 cells in chronic periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 47(4), 525-531.
321. Yoshimura, A., Hara, Y., Kaneko, T., and Kato, I., (1997). Secretion of IL-1 β , TNF- α , IL-8 and IL-1ra by human polymorphonuclear leukocytes in response to

- lipopolysaccharides from periodontopathic bacteria. *Journal of Periodontal Research*, 32(3), 279-286.
322. Verrecchia, F. and Mauviel, A., (2004). TGF- β and TNF- α : antagonistic cytokines controlling type I collagen gene expression. *Cellular Signalling*, 16(8), 873-880.
 323. Verrecchia, F. and Mauviel, A., (2002). Transforming growth factor- β signaling through the Smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *Journal of Investigative Dermatology*, 118(2), 211-215.
 324. Pan, Y., Lloyd, C., Zhou, H., Dolich, S., Deeds, J., Gonzalo, J. A., Vath, J., Gosselin, M., Ma, J., and Dussault, B., (1997). Neurotactin, a membrane-anchored chemokine upregulated in brain inflammation. *Nature*, 387(6633), 611-617.
 325. Blaschke, S., Koziol, M., Schwarz, A., Benöhr, P., Middel, P., Schwarz, G., Hummel, K. M., and Müller, G.A., (2003). Proinflammatory role of fractalkine (CX3CL1) in rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 30(9), 1918-1927.
 326. Inngjerdingen, M., Damaj, B., and Maghazachi, A.A., (2001). Expression and regulation of chemokine receptors in human natural killer cells. *Blood*, 97(2), 367-375.
 327. Hundhausen, C., Misztela, D., Berkhout, T.A., Broadway, N., Saftig, P., Reiss, K., Hartmann, D., Fahrenholz, F., Postina, R., and Matthews, V., (2003). The disintegrin-like metalloproteinase ADAM10 is involved in constitutive cleavage of CX3CL1 (fractalkine) and regulates CX3CL1-mediated cell-cell adhesion. *Blood*, 102(4), 1186-1195.
 328. Turner, S.L., Mangnall, D., Bird, N.C., Blair-Zajdel, M.E., and Bunning, R.A., (2010). Effects of pro-inflammatory cytokines on the production of soluble fractalkine and ADAM17 by HepG2 cells. *Journal of Gastrointestinal & Liver Diseases*, 19(3), 265-271.
 329. Raychaudhuri, S.P., Jiang, W.Y., and Farber, E.M., (2001). Cellular localization of fractalkine at sites of inflammation: antigen-presenting cells in psoriasis express high levels of fractalkine. *British Journal of Dermatology*, 144(6), 1105-1113.
 330. Corcione, A., Ferretti, E., Bertolotto, M., Fais, F., Raffaghello, L., Gregorio, A., Tenca, C., Ottonello, L., Gambini, C., and Furtado, G., (2010). Correction: CX3CR1 Is Expressed by Human B Lymphocytes and Mediates CX3CL1 Driven Chemotaxis of Tonsil Centrocytes. *Plos One*, 5(1)

331. Tong, M., Jiang, Y., Xia, D., Xiong, Y., Zheng, Q., Chen, F., Zou, L., Xiao, W., and Zhu, Y., (2020). Elevated expression of serum endothelial cell adhesion molecules in COVID-19 patients. *The Journal of Infectious Diseases*, 222(6), 894-898.
332. Koizumi, K., Saitoh, Y., Minami, T., Takeno, N., Tsuneyama, K., Miyahara, T., Nakayama, T., Sakurai, H., Takano, Y., and Nishimura, M., (2009). Role of CX3CL1/fractalkine in osteoclast differentiation and bone resorption. *The Journal of Immunology*, 183(12), 7825-7831.
333. Subramani, T., Rathnavelu, V., Alitheen, N.B., and Padmanabhan, P., (2015). Cellular crosstalk mechanism of Toll-like receptors in gingival overgrowth. *International Journal of Molecular Medicine*, 35(5), 1151-1158.
334. Bataller, R. and Brenner, D.A., (2005). Liver fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(2), 209-218.
335. Huebener, P. and Schwabe, R.F., (2013). Regulation of wound healing and organ fibrosis by toll-like receptors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1832(7), 1005-1017.
336. Nurmenniemi, P.K., Pernu, H.E., Laukkanen, P., and Knuuttila, M.L., (2002). Macrophage subpopulations in gingival overgrowth induced by nifedipine and immunosuppressive medication. *Journal of Periodontology*, 73(11), 1323-1330.
337. Becerik, S., Özsan, N., Gürkan, A., Öztürk, V.Ö., Atilla, G., and Emingil, G., (2011). Toll like receptor 4 and membrane-bound CD14 expressions in gingivitis, periodontitis and CsA-induced gingival overgrowth. *Archives of Oral Biology*, 56(5), 456-465.
338. Stout, R.D. and Suttles, J., (2004). Functional plasticity of macrophages: reversible adaptation to changing microenvironments. *Journal of Leukocyte Biology*, 76(3), 509-513.
339. Mills, C., (2012). M1 and M2 macrophages: oracles of health and disease. *Critical Reviews™ In Immunology*, 32(6), 463-88
340. Serhan, C.N., (2007). Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annual Review of Immunology*, 25, 101-137.
341. Das, A., Sinha, M., Datta, S., Abas, M., Chaffee, S., Sen, C.K., and Roy, S., (2015). Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. *The American Journal of Pathology*, 185(10), 2596-2606.

342. Tanaka, Y., Hoshino-Negishi, K., Kuboi, Y., Tago, F., Yasuda, N., and Imai, T., (2020). Emerging Role of Fractalkine in the Treatment of Rheumatic Diseases. *ImmunoTargets and Therapy*, 9, 241.
343. Rao, D.A., Gurish, M.F., Marshall, J.L., Slowikowski, K., Fonseka, C.Y., Liu, Y., Donlin, L.T., Henderson, L.A., Wei, K., and Mizoguchi, F., (2017). Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis. *Nature*, 542(7639), 110-114.
344. Kremers, M., Crowson, C., and Nicola, P., (2005). Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths rheumatoid arthritis. A population-based controlled study. *Arthritis & Rheumatology*, 52, 402-11.
345. Ghattas, A., Griffiths, H.R., Devitt, A., Lip, G.Y., and Shantsila, E., (2013). Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis: where are we now? *Journal of the American College of Cardiology*, 62(17), 1541-1551.
346. Skoda, M., Stangret, A., and Szukiewicz, D., (2018). Fractalkine and placental growth factor: A duet of inflammation and angiogenesis in cardiovascular disorders. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 39, 116-123.
347. Idzkowska, E., Eljaszewicz, A., Miklasz, P., Musial, W., Tycinska, A., and Moniuszko, M., (2015). The role of different monocyte subsets in the pathogenesis of atherosclerosis and acute coronary syndromes. *Scandinavian Journal of Immunology*, 82(3), 163-173.
348. Urbanski, K., Ludew, D., Filip, G., Filip, M., Sagan, A., Szczepaniak, P., Grudzien, G., Sadowski, J., Jasiewicz-Honkisz, B., and Sliwa, T., (2017). CD14⁺ CD16⁺⁺ “nonclassical” monocytes are associated with endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Thrombosis and Haemostasis*, 117(05), 971-980.
349. Li, R.J., Yang, M., Li, J.F., Xue, L., Chen, Y.G., and Chen, W.Q., (2014). Circulating CD 36 and fractalkine levels are associated with vulnerable plaque progression in patients with unstable angina pectoris. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 41(11), 863-869.
350. Burden, R.A., (2008). Integrative Physiology/Experimental Medicine. *Arteriosclerosis Thrombosis, and Vascular Biology*, 28, 243-250.
351. Hansson, G.K., (2001). Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21(12), 1876-1890.

352. Greaves, D.R., Häkkinen, T., Lucas, A.D., Liddiard, K., Jones, E., Quinn, C.M., Senaratne, J., Green, F.R., Tyson, K., and Boyle, J., (2001). Linked chromosome 16q13 chemokines, macrophage-derived chemokine, fractalkine, and thymus-and activation-regulated chemokine, are expressed in human atherosclerotic lesions. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21(6), 923-929.
353. Wong, B.W., Wong, D., and McManus, B.M., (2002). Characterization of fractalkine (CX3CL1) and CX3CR1 in human coronary arteries with native atherosclerosis, diabetes mellitus, and transplant vascular disease. *Cardiovascular pathology*, 11(6), 332-338.
354. Glass, C.K. and Witztum, J.L., (2001). Atherosclerosis: the road ahead. *Cell*. 104(4), 503-516.
355. Shah, R., Hinkle, C.C., Ferguson, J.F., Mehta, N.N., Li, M., Qu, L., Lu, Y., Putt, M.E., Ahima, R.S., and Reilly, M.P., (2011). Fractalkine is a novel human adipochemokine associated with type 2 diabetes. *Diabetes*, 60(5), 1512-1518.
356. Sirois-Gagnon, D., Chamberland, A., Perron, S., Brisson, D., Gaudet, D., and Laprise, C., (2011). Association of common polymorphisms in the fractalkine receptor (CX3CR1) with obesity. *Obesity*, 19(1), 222-227.
357. Sume, S.S., Berker, E., Ilarslan, Y., Ozer Yucel, O., Tan, C., Goyushov, S., Gultekin, S.E., and Tezcan, I., (2020). Elevated Interleukin-17A expression in amlodipine-induced gingival overgrowth. *Journal of Periodontal Research*, 55(5):613-621
358. Arunachalam, L.T. and Rao, S., (2013). Immunolocalization of Bcl-2 oncoprotein in amlodipine-induced gingival overgrowth. *Indian Journal of Dental Research*, 24(2), 255.
359. Takeuchi, R., Matsumoto, H., Akimoto, Y., and Fujii, A., (2012). The inhibitory action of amlodipine for TNF- α -induced apoptosis in cultured human gingival fibroblasts. *Journal of Oral Therapeutics and Pharmacology*, 31, 45-52.
360. Kato, T., Okahashi, N. Ohno, T., Inaba, H., Kawai, S., and Amano, A., (2006). Effect of phenytoin on collagen accumulation by human gingival fibroblasts exposed to TNF- α in vitro. *Oral Diseases*, 12(2), 156-162.
361. Meisel, P., Giebel, J., Kunert-Keil, C., Dazert, P., Kroemer, H.K., and Kocher, T., (2006). MDR1 gene polymorphisms and risk of gingival hyperplasia induced by calcium antagonists. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 79(1), 62-71.

362. Hassel, T., (1982). Evidence for production of an inactive collagenase by fibroblasts from phenytoin-enlarged human gingiva. *Journal of Oral Pathology*, 11, 310-317.
363. Bolzani, G., Coletta, R.D., Júnior, H.M., De Almeida, O.P., and Graner, E., (2000). Cyclosporin A inhibits production and activity of matrix metalloproteinases by gingival fibroblasts. *Journal of periodontal research*, 35(1), 51-58.
364. Kataoka, M., Shimizu, Y., Kunikiyo, K., Asahara, Y., Yamashita, K., Ninomiya, M., Morisaki, I., Ohsak, Y. i., Kido, J.I., and Nagata, T., (2000). Cyclosporin A decreases the degradation of type I collagen in rat gingival overgrowth. *Journal of Cellular Physiology*, 182(3), 351-358.
365. Lauritano, D., Lucchese, A., Di Stasio, D., Della Vella, F., Cura, F., Palmieri, A., and Carinci, F. (2019). Molecular aspects of drug-induced gingival overgrowth: an in vitro study on amlodipine and gingival fibroblasts. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(8), 2047.
366. Kovacs, E.J., (1991). Fibrogenic cytokines: the role of immune mediators in the development of scar tissue. *Immunology Today*, 12(1), 17-23.
367. Duncan, M.R. and Berman, B., (1989). Differential regulation of collagen, glycosaminoglycan, fibronectin, and collagenase activity production in cultured human adult dermal fibroblasts by interleukin 1-alpha and beta and tumor necrosis factor-alpha and beta. *Journal of Investigative Dermatology*, 92(5), 699-706.
368. Buskermolen, J.K., Roffel, S., and Gibbs, S., (2017). Stimulation of oral fibroblast chemokine receptors identifies CCR3 and CCR4 as potential wound healing targets. *Journal of Cellular Physiology*, 232(11), 2996-3005.
369. Klosowska, K., Volin, M., Huynh, N., Chong, K., Halloran, M., and Woods, J., (2009). Fractalkine functions as a chemoattractant for osteoarthritis synovial fibroblasts and stimulates phosphorylation of mitogen-activated protein kinases and Akt. *Clinical & Experimental Immunology*, 156(2), 312-319.
370. Haskard, D.O., (1995). Cell adhesion molecules in rheumatoid arthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, 7(3), 229-234.
371. Liao, H.-X. and Haynes, B.F., (1995). Role of adhesion molecules in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, 21(3), 715.
372. Varga, Z., Flammer, A.J., Steiger, P., Haberecker, M., Andermatt, R., Zinkernagel, A.S., Mehra, M.R., Schuepbach, R.A., Ruschitzka, F., and Moch, H., (2020).

- Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *The Lancet*, 395(10234), 1417-1418.
373. Hosokawa, Y., Hosokawa, I., Ozaki, K., Nakae, H., and Matsuo, T., (2006). Cytokines differentially regulate ICAM-1 and VCAM-1 expression on human gingival fibroblasts. *Clinical & Experimental Immunology*, 144(3), 494-502.
 374. Kornman, K.S., (2008). Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *Journal of Periodontology*, 79, 1560-1568.
 375. Kornman, K.S. and Di Giovine, F.S., (1998). Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Annals of Periodontology*, 3(1), 327-338.
 376. Wang, L., Li, X.H., and Ning, W.C., (2016). Evaluation of icam-1 and vcam-1 gene polymorphisms in patients with periodontal disease. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 22, 2386.
 377. Miller, D.R., Lamster, I.B., and Chasens, A.I., (1984). Role of the polymorphonuclear leukocyte in periodontal health and disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 11(1), 1-15.
 378. Rezavandi, K., Palmer, R., Odell, E., Scott, D., and Wilson, R., (2002). Expression of ICAM-1 and E-selectin in gingival tissues of smokers and non-smokers with periodontitis. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 31(1), 59-64.
 379. Nakamura, S., Ohtani, H., Watanabe, Y., Fukushima, K., Matsumoto, T., Kitano, A., Kobayashi, K., and Nagura, H., (1993). In situ expression of the cell adhesion molecules in inflammatory bowel disease. Evidence of immunologic activation of vascular endothelial cells. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 69(1), 77-85.
 380. Radwan-Oczko, M., Boratyńska, M., Ziętek, M., and Dobosz, T., (2008). Transforming growth factor- β 1 gene expression and cyclosporine A-induced gingival overgrowth: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(5), 371-378.
 381. Sattari, M., Fathiyeh, A., Gholami, F., Darbandi Tamijani, H., and Ghatreh Samani, M., (2011). Effect of surgical flap on IL-1 β and TGF- β concentrations in the gingival crevicular fluid of patients with moderate to severe chronic periodontitis. *Iranian Journal of Immunology*, 8(1).

382. Yang, J. and Weinberg, R.A., (2008). Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Developmental cell*, 14(6), 818-829.
383. Igarashi, A., Nashiro, K., Kikuchi, K., Sato, S., Ihn, H., Grotendorst, G.R., and Takehara, K., (1995). Significant correlation between connective tissue growth factor gene expression and skin sclerosis in tissue sections from patients with systemic sclerosis. *Journal of Investigative Dermatology*, 105(2), 280-284.
384. Grotendorst, G.R., (1997). Connective tissue growth factor: a mediator of TGF- β action on fibroblasts. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 8(3), 171-179.
385. Clouthier, D.E., Comerford, S.A., and Hammer, R.E., (1997). Hepatic fibrosis, glomerulosclerosis, and a lipodystrophy-like syndrome in PEPCK-TGF-beta1 transgenic mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 100(11), 2697-2713.
386. Chen, S. J., Yuan, W., Mori, Y., Levenson, A., Varga, J., and Trojanowska, M., (1999). Stimulation of type I collagen transcription in human skin fibroblasts by TGF- β : involvement of Smad 3. *Journal of Investigative Dermatology*, 112(1), 49-57.
387. Kim, S., Jackson-Boeters, L., Darling, M., Rieder, M., and Hamilton, D., (2013). Nifedipine induces periostin expression in gingival fibroblasts through TGF-beta. *Journal of Dental Research*, 92(11), 1022-1028.
388. Linden, G.J., Haworth, S.E., Maxwell, A.P., Poulton, K.V., Dyer, P.A., Middleton, D., Irwin, C.R., Marley, J.J., McNamee, P., and Short, C.D., (2001). The Influence of Transforming Growth Factor- β 1 Gene Polymorphisms on the Severity of Gingival Overgrowth Associated With Concomitant Use of Cyclosporin A and a Calcium Channel Blocker. *Journal of Periodontology*, 72(6), 808-814.
389. Lu, H., Mackenzie, I., and Levine, A., (1997). Transforming growth factor- β response and expression in junctional and oral gingival epithelial cells. *Journal of Periodontal Research*, 32(8), 682-691.
390. Kuru, L., Yilmaz, S., Kuru, B., Köse, K., and Noyan, Ü., (2004). Expression of growth factors in the gingival crevice fluid of patients with phenytoin-induced gingival enlargement. *Archives of Oral Biology*, 49(11), 945-950.
391. Khalaf, H., Lönn, J., and Bengtsson, T., (2014). Cytokines and chemokines are differentially expressed in patients with periodontitis: possible role for TGF- β 1 as a marker for disease progression. *Cytokine*, 67(1), 29-35.

- 392. Steinsvoll, S., Halstensen, T., and Schenck, K., (1999). Extensive expression of TGF- β 1 in chronically-inflamed periodontal tissue. *Journal of Clinical Periodontology*, 26(6), 366-373.
- 393. Skalerič, U., Kramar, B., Petelin, M., Pavllia, Z., and Wahl, S.M., (1997). Changes in TGF- β 1 levels in gingiva, crevicular fluid and serum associated with periodontal inflammation in humans and dogs. *European Journal of Oral Sciences*, 105(2), 136-142.





EK-1. Etik Kurul Karar Formu



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Diş Hekimliği Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayın Prof. Dr. F. Deniz ÇETİNER
Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanlığına

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna, etik açıdan değerlendirmek üzere göndermiş olduğunuz "Dişeti Büyümlerinde Etkili Olan TNF- α , Fractalkine ve TGF- β Kemokin Seviyelerinin Değerlendirilmesi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Ek: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu (3 Sayfa)/Elden Teslim Edilecektir.



EK-1. (devam) Etik Kurul Karar Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Prof. Dr. F. Deniz ÇETİNER tarafından gönderilen "Dişeti Büyümelerinde Etkili Olan TNF- α , Fractalkine ve TGF- β Kemokin Seviyelerinin Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne.			
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU					
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI				
	AÇIK ADRESİ:				
	TELEFON				
	FAKS				
	E-POSTA				
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. F. Deniz ÇETİNER			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Gazi Üniversitesi Diş Hek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı Bşk.			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ				
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
İlaç dışı klinik araştırma		☐			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Diğer ise belirtiniz				
	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

EK-1. (devam) Etik Kurul Karar Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Prof. Dr. F. Deniz ÇETİNER tarafından gönderilen "Dişeti Büyümlerinde Etkili Olan TNF- α , Fractalkine ve TGF- β Kemokin Seviyelerinin Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER:	☐				
	Karar No: GÜDHKA EK.19.08/2	Tarih: 18.04.2019				
KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
BASKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi		Katılım *		İmza
	Endodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐		
	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐		
	Restoratif Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☒		
	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☒		
	Ortodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☒	E ☒ H ☐		
	Fizyoloji	Uluk Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☒		
	Pedodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐		
	Farmakoloji	Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐		
	Protetik Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☒	E ☒ H ☐		

EK-1. (devam) Etik Kurul Karar Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Prof. Dr. F. Deniz ÇETİNER tarafından gönderilen "Dişeti Büyümlerinde Etkili Olan TNF- α , Fractalkine ve TGF- β Kemokin Seviyelerinin Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,							
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU									
Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR etik kurul başkan yardımcısı	Periodontoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Benay YILDIRIM	Oral Patoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☒	
Uzm. Dr. Hakan TÜZÜN	Halk Sağlığı	Sağlık Bakanlığı	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☒	H ☐	
Av. Efe AYAZ	Avukat	Serbest Avukat	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☒	H ☐	
İlker YAVUZ	Fotoğraf Eğitmeni	-	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☒	H ☐	

*Toplantıda Bulunma

EK-2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Dişeti Büyümlerinde Etkili Olan TNF- α , Fractalkine ve TGF- β Kemokin Seviyelerinin Değerlendirilmesi” Adlı Çalışma için;

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sorumlu Araştırmacı Adı: Prof. Dr. F. Deniz Çetiner

Bölümümüzde yürütülmekte olan “Dişeti Büyümlerinde Etkili Olan TNF- α ,Fraktalkine ve TGF- β Kemokin Seviyelerinin Değerlendirilmesi” konulu çalışmaya katılımınız istenmektedir. Bu çalışma, klinik araştırma amaçlı olup, toplam 45 gönüllü içerecektir. Bu çalışmada dişeti büyümesine neden olan belirteçlerin dişlerin çevresindeki sıvıda ve büyümüş dişeti dokusundaki varlıklarının ve seviyelerinin tespiti amaçlanmaktadır.

Periodontoloji kliniğimize başvurunuzu takiben dişeti büyümesi tespit edilmesi durumunda size araştırmanın amacı ve yöntemi anlatılıp, katılım için onayınız alındıktan sonra çalışmamıza dahil edilecek ve araştırmaya başlanacaktır. Çalışılması planlanan belirteçler için çalışmanın yöntemine uygun olarak dişeti oluşu sıvınız, rutin tanı ve/veya tedavi amaçlı çıkarılan doku örnekleriniz imha edilmeyip örnek tüplerine alınacaktır.

Çalışma sırasında ilk seansınızda dişeti sağlığınızın ve çevre dokuların sağlık durumlarını tespit etmek amacıyla, dişlerinizin çevresinden periodontal sond denilen metal bir aletle ölçümler yapılacaktır. Ölçümler yapıldıktan sonra, oral hijyen konusunda bilgilendirilecek, diş fırçalama tekniği, diş ipi ve /veya arayüz fırçası kullanımı sizlere gösterilecektir. Günde 2 kez oral hijyen prosedürlerini yerine getirmeniz istenecektir. 1 hafta sonra örnekleme yapılmak amacıyla tekrar çağırılacaksınız.

Dişeti oluşu sıvısında büyümeye neden olan belirteçlerin tespiti için, dişinizin çevresindeki sıvı, küçük kağıt benzeri malzemeye toplanacaktır. Emici kağıt şeritler dişeti oluşunun içine 1 mm yerleştirilip 30 saniye bekletilecek ve bu süre sonunda elde edilen dişeti sıvısı miktarı kağıt şeritlerin hassas terazide tartılmasıyla belirlenecektir. Örnek alınacak bölgeler tükürük bulaşmasından kaçınmak amacıyla işlem öncesi steril pamuk rulolarla tükürükten izole edilecek ve dişler üzerindeki plak olarak adlandırılan eklenti hava spreyi ile 10 saniye boyunca kurutularak bölgeden uzaklaştırılacaktır. Tükürük ve kanla bulaşmış olan kağıt şeritler çalışmaya dahil edilmeyecektir. Dişeti oluşu sıvısı içeren kağıt şeritler özel tüplere aktarılacak, örnekler laboratuvar aşamasına kadar Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Patoloji Bölümünde mevcut olan -30° C soğutucularda muhafaza edilecektir. Alınan dişeti oluşu sıvısı örneklerinde çalışılması planlanan belirteçler özel saklama ve taşıma koşulları sağlanarak Uşak Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında ELISA olarak adlandırılan yöntemle değerlendirilecektir.

Dişeti oluşu sıvınız toplandıktan sonra aynı seansta rutin tanı ve/veya tedavi amaçlı çıkarılan dokularınız imha edilmeyip onayınız alındıktan sonra inceleme amaçlı örnek tüplerine konulacaktır. Kontrol grubunda iseniz; aynı metodlarla klinik ölçümler yapılacak, diş fırçalama konusunda bilgi verilecek, günde 2 kez diş fırçalama yapmanız istenecek ve 1 hafta sonra örnekleme yapmak amacıyla çağırılacaksınız. Estetik kuron boyu uzatma amacıyla, dişeti oluşu sıvısı alımını takiben estetik kuron boyu uzatma işleminiz sırasında çıkarılan dokular imha edilmeyip örnek tüplerine alınarak çalışmaya dahil edilecektir.

EK-2. (devam) Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Alınan dokular analiz edilinceye kadar Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Patoloji Bölümünde mevcut olan-80° C' da soğutucularda muhafaza edilecektir. Tüm gruptaki örneklerin tamamlanmasını takiben özel saklama ve taşıma koşulları sağlanarak çalışılması planlanan belirteçler Uşak Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında PCR denilen yöntemle değerlendirilecektir.

Örnek alımından sonra 1 hafta boyunca günde 2 kez (0.12' lik klorheksidin içeren) ağız gargaraları kullanımı ile ağız hijyeninizin sağlanması önerilecektir.

Örneklerin alınmasını takiben gerekli dişeti tedavileriniz, kontrolleriniz, sonrası yapılması muhtemel cerrahi işlemlerinizi Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı kliniğinde rutin tedavi protokolü kapsamında devam ettirilecektir.

Tedaviniz Sosyal güvenliğinizi kapsamında mevcut SUT fiyatlandırmasına bağlı olarak ücretlendirilecektir.

Çalışma sırasında doğabilecek ek bir risk ve sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Çalışmaya katılımınız, örnekler toplandıktan sonra son bulacaktır. Toplanan dişeti oluğu sıvısı ve doku örnekleri özel tüplere konularak Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Patoloji Bölümünde -30° ve -80° soğutucu dolaplarda muhafaza edilecek ve tüm örnekler toplandıktan sonra özel taşıma koşulları sağlanarak örneklerin incelenmesi Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında Doç. Dr. Rahşan Ilıkçı Sağkan tarafından yapılacaktır.

Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum. Bu klinik çalışmada yer almayı kabul ediyorum. Çalışmanın amacı, uygulanması planlanan işlemler tüm detaylarıyla anlatıldı. Dt. Nazife Hamurcu tarafından tam olarak bilgilendirildim. Çalışmanın amacı ve sonuçları, karşılaşılabileceğim olumlu ve olumsuz yönler bana açıklanmıştır. Bu bilgiler kapsamında tedavilerim öncesinde klinik ölçümler, dişeti oluğu sıvısı ve dişeti dokusu örnekleri alınması gibi çalışmayla ilgili her türlü kaydın alınabileceği, kişilik haklarıma saygı gösterilmek koşuluyla bilimsel olarak kullanılabileceğini karşılıksız olarak kabul ettim. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, etik kurul, kurum ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin orijinal tıbbi kayıtlarıma erişimine, bilgilerimin gizli tutulması koşuluyla izin veriyorum. Çalışma ile ilgili bilgi almak istediğimde Dt. Nazife Hamurcu' ya 0505 454 6742 no' lu telefonda ulaşabileceğim konusunda bilgilendirildim. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı :

İmza :

Doktorun Adı-Soyadı :

Tarih :

İmza :

EK-3. Anamnez Formu

Gönüllü Kodu :

Çalışma Grubu :

Adı-Soyadı :

TC Kimlik No :

Doğum Tarihi :

Cinsiyet :

Cep Tel :

Adres :

Fakülteye başvuru nedeni :

Daha önce periodontal tedavi görmüş/ En son ne zaman ?

☐ Evet☐ Hayır

OHE verilmiş :

☐ Evet☐ Hayır:

Diş fırçalama sıklığı :

Diş ipi/ Arayüz fırçası kullanma sıklığı ?

Sistemik Anamnez:

- ☐ Kalp hastalığı:
- ☐ Diyabet:
- ☐ Hepatit:
- ☐ İlaç alerjisi:
- ☐ Tiroid problemi:
- ☐ Epilepsi:
- ☐ Kanser:
- ☐ Hamilelik:
- ☐ Doğum kontrol hapi:
- ☐ Diğer:

- ☐ Hipertansiyon:
- ☐ Kanama problemi:
- ☐ HIV:
- ☐ Endokrin hastalıklar:
- ☐ Kortizon Tedavisi:
- ☐ Lösemi:
- ☐ İmmün yetmezlik durumları:
- ☐ Emzirme:
- ☐ Sigara:

Kullanılan ilaçlar :

İlaç kullanım Süresi :

Kullanılan ilaç Dozu :

DOS Örnek Bölgesi :

Gingival Doku Örnek Bölgesi :

DOS Tüp No :

Gingival Doku Tüp No :

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı,adı : HAMURCU, Nazife

Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi/ Periodontoloji Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi / Diş Hekimliği Fakültesi	2000
Lise	Adana Laboratuvar Sağlık Meslek Lisesi	1994

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2009 -devam ediyor	Mamak Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi	Diş Tabibi
2009	Gölbaşı Ağız Ve Diş Sağlığı Merkezi	Diş Tabibi
2005	Ankara 14 Nolu Kayaş Açsm	Diş Tabibi
2002	Ankara Gündül Devlet Hastanesi	Diş Tabibi
2000	Ankara Altındağ 2 Nolu Sağlık Ocağı	Laboratuvar Teknisyeni
1997	Samsun Göğüs Hastalıkları Hastanesi	Laboratuvar Teknisyeni
1995	Samsun Mehmet Aydın Devlet Hastanesi	Laboratuvar Teknisyeni
1994	Ankara Eğitim Ve Araştırma Hastanesi	Laboratuvar Teknisyeni

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

1. Hamurcu, N., Tunç S., Binici, A.K., Çetiner F.D. Keratinize Mukoza Eksikliği Olan İmplant Bölgelerinin Otojen Yumuşak Doku Grefti İle Ogmentasyonu Olgu Sunumu, doi: 10.17517/ksutfd.674972
2. Ahu Uraz, Nazife Hamurcu, Janset Şengül. Obez Bireylerde Oral Mikrobiyal Kompozisyon-Periodontal Hastalık İlişkisi "Türkiye Klinikleri Periodontoloji - Özel Konular <https://www.turkiyeklinikleri.com/journal/periodontoloji-ozel/2149-5335/tr-index.html>
3. Prof. Dr. F. Deniz Çetiner, Dt.Nazife Hamurcu, Dt. A. Kemal Binici
Kalsiyum Kanal Blokeri Kullanımının Periodontal Dokular Üzerine Patolojik Etkileri
ADO Klinik Bilimler Dergisi Cilt 10 - Sayı 1, 2021, Sayfalar 65 - 71

Bilimsel Toplantı ve Kongrelerde Sunulan Sözlü ve Yazılı Bildiriler

1. Hamurcu, N., Tunç S., Binici,A.K., Çetiner F.D. Keratinize Mukoza Eksikliği Olan İmplant Bölgelerinin Otojen Yumuşak Doku Grefti İle Ogmentasyonu; Olgu Sunumu; Nazife HAMURCU, Samet TUNÇ, Kemal BİNİCİ, Deniz ÇETİNER Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 1. Genç Akademisyenler Kongresi 20-21 Şubat 2020 Ankara, Turkey

Projeler

1. Dişeti büyümlerinde etkili olan olan TNF- α , FRAKTALKİNE VE TGF- β kemokin seviyelerinin değerlendirilmesi -Gazi Üniversitesi BAP- 03/2019.08 / Araştırmacı

Hobiler

Sörf, Paraşüt, Voleybol, Basketbol, Pilates, Kitap okuma



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

