



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

HASTALIKLI VE SAĞLIKLI İMPLANT ÇEVRESİ DİŞ ETİ BAĞ
DOKULARININ HIF-1 α , Smad 3 VE FOXO4 SEVİYELERİNİN
BELİRLENMESİ

Hazırlayan
Arş. Gör. Emre LAFCI

Periodontoloji Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat TAŞKAN
Eş Danışman
Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE

TOKAT-2021



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

HASTALIKLI VE SAĞLIKLI İMPLANT ÇEVRESİ DİŞ ETİ BAĞ
DOKULARININ HIF-1 α , Smad 3 VE FOXO4 SEVİYELERİNİN
BELİRLENMESİ

Hazırlayan
Arş. Gör. Emre LAFCI

Periodontoloji Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat TAŞKAN
Eş Danışman
Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE

TOKAT-2021

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(26/02/2021)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Emre LAFCI

İmzası

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez hazırlama sürecimde her konuda desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübelerini ve önerilerini benimle paylaşan, hekim olarak örnek aldığım değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat TAŞKAN'a;

Tezimin tüm aşamalarında akademik bilgisiyle bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen ve uzmanlık eğitimim sürecinde akademik ve klinik olarak bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan Anabilim Dalı Başkanımız ve eş danışman hocam Doç. Dr. Hatice BALCI YÜCE'ye;

Uzmanlık eğitimim sürecinde her konudaki tecrübelerini ve önerilerini benimle paylaşan, tezimin ve uzmanlık eğitimimin her aşamasında desteğini hissettiğim, her zaman kibar ve anlayışlı olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Özkan KARATAŞ'a

Tez projemin gerçekleştirilmesinde laboratuvar aşamalarında ve analizlerinde yardımcı olan değerli hocalarım Doç. Dr. Ercan ÇAÇAN'a ve Doç. Dr. Fikret GEVREK'e;

Tezimin tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen çok sevdiğim arkadaşlarım Arş. Gör. Onur CANPOLAT'a ve Arş. Gör. Damla ÇELİK'e ve tüm asistan arkadaşlarıma;

Tezimin ve uzmanlık eğitimimin tüm aşamalarında her zaman desteğini hissettiğim çok sevdiğim abim Uzm. Dt. Mustafa DİLLİ'ye;

Varlıkları ile bana güç veren ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecinde her zaman yanımda olan ve varlığı ile tüm sıkıntılarımdan unutturan Berke Nur ERGÜ, iyi ki hayatımdasın.

ÖZET

Amaç: İmplant çevresi hastalıklı ve sağlıklı periimplant mukoza, içerdiği fibroblast, enflamatuvar hücreler ve kollajen miktarı itibarıyla gingivadan farklılık gösterebilir. Cerrahi sonrasında bağ dokusunda klinik olarak iyileşme gözlene bile, iyileşen bağ dokusunun orijinal hücre ve kollajen içeriğine aynen sahip olmadığı çalışmalarla gösterilmiştir. Bu araştırmanın amacı; hastalıklı ve sağlıklı, gingival ve periimplant mukozal bağ dokuların, iyileşme biyobelirteçleri bakımından karşılaştırılmasıdır.

Yöntem: Bu çalışma, rezektif gingival cerrahi endikasyonu olan toplam 64 hasta üzerinde yapılmıştır. Hastalar sağlıklı (n=16), periodontitis (n=16), periimplant mukozitis (n=16) ve periimplantitis (n=16) olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Faz 1 periodontal tedavileri tamamlanan hastalardan, gingiva ve periimplant mukoza doku örnekleri alınmıştır. Doku örneklerinden elde edilen homojenatlardan Polimeraz Zincir Reaksiyonu analizi ile FGF-7, Smad 3, HIF-1 α , VEGF, FOXO4 ve PHD gen ekspresyonlarının ve immünohistokimyasal boyama yöntemi ile FGF-7 ve Smad 3 genlerinin analizleri yapılmıştır. İmmünohistokimya ile dokudaki protein seviyelerine bakılmıştır.

Bulgular: İmmünohistokimyasal boyama bulgularına göre, FGF-7 ve Smad 3 seviyeleri, sağlıklı grupta istatistiksel olarak diğer gruplardan daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). PZR bulgularına göre, FGF-7, Smad 3, HIF-1 α , VEGF, FOXO4 ve PHD gen ekspresyonları, sağlıklı grupta diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$). FGF-7, Smad 3, HIF-1 α ve PHD gen ekspresyonları periimplantitis grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). FOXO4 ve VEGF gen

ekspresyonları, periimplant mukozitis grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Sonuç: Periodontal hastalık sonrası veya rezektif gingival cerrahi sonrası post operatif bağ doku kompozisyonu değerlendirildiğinde periimplant mukoza yara iyileşmesi ve oksijenlenme açısından daha dezavantajlı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Periimplant Mukozitis, Periimplantitis, HIF-1 α , Smad 3

Emre LAFCI, Uzmanlık Tezi

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi

Tokat, 2021

ABSTRACT

Objective: Diseased and healthy peri implant mucosa around the implant may differ from gingiva in terms of the amount of fibroblasts, inflammatory cells and collagen it contains. Even if clinical improvement is observed in the connective tissue after surgery, studies have shown that the healing connective tissue does not have the original cell and collagen content. The purpose of this study; is the comparison of diseased and healthy gingival and periimplant mucosal connective tissues in terms of healing biomarkers.

Method: This study was conducted on 64 patients with resective gingival surgery indications. The patients were studied in four groups as healthy (n = 16), chronic periodontitis (n = 16), periimplant mucositis (n = 16) and periimplantitis (n = 16). Gingival and periimplant mucosal tissue samples were taken from patients whose phase 1 periodontal treatments were completed. FGF-7 and Smad 3 genes were analyzed by immunohistochemical staining method and FGF-7, Smad 3, HIF-1 α , VEGF, FOXO4 and PHD gene expressions by Polymerase Chain Reaction method from the homogenates obtained from tissue samples. Protein levels in the tissue were examined by immunohistochemistry.

Results: According to the immunohistochemical staining findings, FGF-7 and Smad 3 levels were statistically lower in the healthy group than in the other groups (p <0.05). According to the PCR findings, FGF-7, Smad 3, HIF-1 α , VEGF, FOXO4 and PHD gene expressions were found to be significantly lower in the healthy group compared to the other groups (p <0.05). FGF-7, Smad 3, HIF-1 α and PHD gene expressions were found to be significantly higher in the periimplantitis group compared

to the other groups ($p < 0.05$). FOXO4 and VEGF gene expressions were found to be significantly higher in periimplant mucositis group compared to other groups ($p < 0.05$).

Conclusion: After periodontal disease or post-operative connective tissue composition after resective gingival surgery, periimplant mucosa was found to be more disadvantageous in terms of wound healing and oxygenation.

Keywords: Periimplant Mucositis, Periimplantitis, HIF-1 α , Smad 3

Emre LAFCI, Thesis

Tokat Gaziosmanpaşa University, The Faculty of Dentistry

Tokat, 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. PERİODONSİYUM	4
2.1.1. Diş Eti	4
2.1.2. Periodontal Ligament	11
2.1.3. Sement	13
2.1.4. Alveol kemiği	14
2.2. PERİİMLANT DOKULAR	15
2.2.1. Periimplant Mukoza	16
2.2.2. Periimplant Destekleyici Kemik	18
2.3. PERİODONSİYUM VE PERİİMLANT DESTEK DOKULARININ KARŞILAŞTIRMALI ANATOMİSİ, HİSTOLOJİSİ VE FİZYOLOJİSİ	21
2.4. PERİİMLANT DOKU HASTALIKLARI	28
2.4.1. Periimplant Mukozitis	29
2.4.2. Periimplantitis	32
2.4.3. Periimplant Mukozitis ve Periimplantitisin Patogenezi ve Enflamatuvar Mekanizmalar	34
2.5. PERİODONTAL HASTALIKLAR VE PERİİMLANT DESTEK DOKU HASTALIKLARININ İYİLEŞME MEKANİZMASI	38
2.5.1. Epitelizasyon	39
2.5.2. Bağ Doku İyileşmesi	40
2.5.3. İyileşme Sürecindeki Regülatör Mekanizmalar	43
3. MATERYAL METOD	48
3.1. Hasta Seçim Kriterleri	48
3.2. Çalışma Grupları	49
3.3. Periodontal İndeksler	50

3.3.1. Plak İndeksi (Pİ).....	50
3.3.2. Gingival İndeks (Gİ).....	50
3.3.3. Periodontal Cep Derinliği (CD)	51
3.3.4. Klinik Ataçman Seviyesi (KAS)	51
3.4. Diş Eti Örneklerinin Homojenizasyonu	51
3.5. PZR Analizi	52
3.6. İmmünohistokimya Boyama	53
3.6.1 İmmünohistokimyasal H Skor Analizi	54
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	54
4. BULGULAR.....	56
4.1. İmmünohistokimya Bulguları	57
4.1.1. FGF-7	58
4.1.2. Smad 3	60
4.2. PZR Bulguları	62
4.2.1. Smad 3 Ekspresyonu.....	62
4.2.2. FGF-7 Ekspresyonu	63
4.2.3. HIF-1 α Ekspresyonu	64
4.2.4. VEGF Ekspresyonu	65
4.2.5. PHD Ekspresyonu	66
4.2.5. FOXO4 Ekspresyonu	67
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	80
7. KAYNAKLAR	82
EK-1	130
EK-2	131

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1.: Dentogingival lifler.....	10
Tablo 2.2.: Periimplant mukozitisin teşhisi için yapılmış çalışmalar.....	31
Tablo 3.1.: Primer antikorların baz dizilimleri.....	53
Tablo 4.1.: Çalışma gruplarında demografik veriler ve klinik ölçümler.....	56
Tablo 4.2.: FGF-7 ve Smad 3'ün immünohistokimya bulguları.....	57



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.: PDL lifleri.....	13
Şekil 2.2.: Periimplant dokular.....	23
Şekil 2.3a.: İmplant ve dişlerdeki kollajen liflerin dağılımı.....	26
Şekil 2.3b.: İmplant ve dişlerdeki vasküler yapıların dağılımı.....	26
Şekil 4.1.: FGF-7 immünohistokimya bulguları.....	58
Şekil 4.2.: Çalışma gruplarındaki FGF-7'nin immünohistokimya görüntüleri...	59
Şekil 4.3.: Smad 3 immünohistokimya bulguları.....	60
Şekil 4.4.: Çalışma gruplarındaki Smad 3'ün immünohistokimya görüntüleri...	61
Şekil 4.5.: Smad 3 gen ekspresyonu.....	62
Şekil 4.6.: FGF-7 gen ekspresyonu.....	63
Şekil 4.7.: HIF-1 α gen ekspresyonu.....	64
Şekil 4.8.: VEGF gen ekspresyonu.....	65
Şekil 4.9.: PHD gen ekspresyonu.....	66
Şekil 4.10.: FOXO4 gen ekspresyonu.....	67

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

- BMP: Bone Morfojenik Protein
- bFGF: Fibroblast Büyüme Faktörü
- CD: Periodontal Cep Derinliği
- DOS: Diş Eti Oluğu Sıvısı
- EGF: Epidermal Büyüme Faktörü
- ELİSA: Enzime Bağlı İmmünosorban Analizi
- ESM: Ekstrasellüler Maktriks
- FGF-1: Fibroblast Büyüme Faktörü-1
- FGF-2: Fibroblast Büyüme Faktörü-2
- FGF-10: Fibroblast Büyüme Faktörü-10
- FOXO: Forkhead Box-O
- FOXO1: Forkhead Box-O1
- FOXO3: Forkhead Box-O3
- FOXO4: Forkhead Box-O4
- FOXO6: Forkhead Box-O6
- Gİ: Gingival İndeks
- GM-CSF: Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
- HIF-1 α : Hipoksi İle İndüklenen Faktör alfa
- IFN: İnterferon
- IL-1: İnterlökin-1
- IL-1 α : İnterlökin-1 alfa
- IL-1 β : İnterlökin-1 beta
- IL-2: İnterlökin-2
- IL-4: İnterlökin-4
- IL-5: İnterlökin-5
- IL-6: İnterlökin-6
- IL-7: İnterlökin-7

IL-8: İnterlökin-8

IL-10: İnterlökin-10

IL-12: İnterlökin-12

IL-17: İnterlökin-17

KAS: Klinik Ataçman Seviyesi

KGF(FGF-7): Keratinosit Büyüme Faktörü

MMP: Matriks Metaloproteinazlar

OPG: Osteoprotegerin

PBS: Fosfat Tampon Çözeltidi

PDGF: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

PDL: Periodontal Ligament

PGE-2: Prostoglandin-E2

PHD: Prolil Hidroksilaz

PHD-2: Prolil Hidroksilaz-2

PIE: Periimplant Epitel

PISE: Periimplant Sulkuler Epitel

PISS: Periimplant Sulkuler Sıvısı

Pİ: Plak İndeksi

PMNL: Polimorfonükleer Lökositler

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RANKL: Nükleer Faktör Kappa-B Ligandı

TGF- β : Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta

TGF- β 1: Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta 1

TNF- α : Tümör Nekroz Faktör alfa

VEGF: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

°: Derece

°C: Derece Celsius

μ m: Mikrometre

mm: Milimetre

nm: Nanometre

N: Newton

%: Yüzde



1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar, çoğunlukla mikrobiyal dental plak birikim sürecinde plaktaki disbiyotik ekolojik değişikliklere bağlı olarak, konak doku yanıtının uyarılmasıyla başlar. Periodontal hastalığın iki ana formu vardır; gingivitis ve periodontitis (Silva ve ark., 2015). Gingivitis, klinik ataçman kaybı veya kemik kaybına neden olmaksızın marjinal diş etinin iltihabıdır. Dolayısıyla, enflamatuvar periodontal hastalığın tersinir başlangıç evresi olarak düşünülebilir. Tersine, periodontitis, sementten kollajen liflerin patolojik bir şekilde ayrılması ve birleşim epitelinin apikale migrasyonu ile birlikte periodonsiyumun enflamasyonu ile karakterizedir. Diş yüzeyinde mikrobiyal dental plak birikimi ve plağın biyofilm olarak organize olmasıyla başlayan enfeksiyöz süreç periodontal savunma ve yıkım mekanizmaları arasında dengesizliğe yol açar ve periodontal bağ dokusu ve alveol kemikte yıkım ve diş kaybı ile sonuçlanır. Biyofilm yoğun olarak anaerobik bakterilerden oluşur ve bu bakteri türleri yerel ve sistemik immün ve enflamatuvar yanıtı tetikler. Bu sürecin gerçekleşmesi için bakterilere gereksinim olmasına rağmen sadece bakteri varlığı yeterli değildir; bakterilere karşı gelişen konak yanıtının periodontal hastalıkta önemli bir rol aldığı bilinmektedir. Periodontopatojenler ve konak arasındaki bu etkileşim periodontal enflamasyonun yayılması ve şiddetlenmesinden sorumludur (Theoleyre ve ark., 2004). Günümüzde periodontal hastalığa bağlı veya diğer nedenlerden ötürü kaybedilmiş dişlerin tedavisinde çoğunlukla osseointegre dental implantlar kullanılmaktadır. Dental implantlar, çeşitli protezleri desteklemek için kullanıldığında uzun süreli sağkalım oranlarına (≥ 10 yıl) sahiptir. Bununla birlikte, fonksiyondaki dental implantlar mekanik ve biyolojik komplikasyonlara maruz kalabileceğinden, uzun süreli başarı oranı her zaman aynı değildir (Derks ve ark., 2016).

Dental implantlarla ilişkili biyolojik komplikasyonlar çoğunlukla, implant çevresindeki yumuşak ve sert dokularda bakteriyel biyofilm birikimine bağlı meydana gelen enflamatuvar durumlardır. Periimplant doku hastalıkları olarak bilinen bu durumlar periimplant mukozitis ve periimplantitis olarak adlandırılmaktadır. Periimplant mukozitis, sondalamada kanama ve enflamasyonun görsel bulguları ile karakterizedir. Periimplant mukozitis esas olarak implant-mukoza arayüzünde, konak-mikroorganizma homeostazının bozulması ile oluşur ve geri dönüşümlü bir süreçtir (Berglundh ve ark., 2018b). Periimplantitis, periimplant dokuların iltihaplanması ve ardından ilerleyen destekleyici kemik kaybı ile karakterizedir. Dental implantların etrafındaki dokuda meydana gelen plakla ilişkili patolojik bir durum olarak tanımlanmaktadır (Caton ve ark., 2018). İnsan ve hayvan modellerinde yapılan epidemiyolojik ve klinik deneysel çalışmalar, gingivitisin ve periodontitisin diş yüzeylerindeki ve diş eti kenarlarındaki bakteriyel biyofilmin varlığına ve olgunlaşmasına bağlı olduğunu kanıtlamıştır (Lindhe ve ark., 1973; L  e ve ark., 1965; Theilade ve ark., 1966). Benzer şekilde, hayvan ve insan çalışmalarından elde edilen bulgular, hem klinik hem de histolojik olarak, titanyum dental implantlara komşu yumuşak dokularda deneysel biyofilm birikimi sonucunda benzer bir reaksiyonun elde edilebileceğini göstermiştir (Leonhardt ve ark., 1992; Pontoriero ve ark., 1994). Üç haftalık deneysel biyofilm oluşturularak yapılan bir çalışmada doğal dişler ve titanyum implantlar etrafında plak indeksi (PI), gingival indeks (GI), sulkus kanama indeksi, sondalama derinliği ve diş eti marjindeki çekilmeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir (Zitzmann ve ark., 2001). Klinik olarak sağlıklı durumdaki implantların ve dişlerin etrafındaki yumuşak doku biyopsileri ile 3 haftalık deneysel biyofilm birikiminden sonra alınan örnekler karşılaştırıldığında, hem dişleri hem de implantları çevreleyen bağ dokusunda,

enflamatuvar hücrelerin (T-lenfosit, B-lenfosit) sayısında artış olduğu gösterilmiştir (Zitzmann ve ark., 2001).

Bu bilgilerin ışığında; implant çevresi hastalıklı periimplant mukozanın, diş çevresi dokularla karşılaştırıldığında gerek periodontal hastalık gerekse cerrahi müdahale sonrasında bağ doku kompozisyonundaki değişiklikler nedeniyle yara iyileşmesi ve oksijenlenme açısından daha dezavantajlı olabileceği düşünülmektedir.

Bu diş hekimliği uzmanlık tezi çalışmasının amacı; hastalıklı ve sağlıklı periimplant ve periodontal yumuşak dokuların iyileşme biyobelirteçleri bakımından karşılaştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PERİODONSIYUM

Periodonsiyum, dişleri çevreleyen ve destekleyen yapıdır. Dört ana bileşenden oluşur: diş eti, periodontal ligament (PDL), sement ve alveol kemiği. Bu periodontal bileşenlerin her biri konumu, doku yapısı ve biyokimyasal bakımdan farklıdır, ancak bu bileşenlerin tümü tek bir birim olarak birlikte işlev görür. Periodonsiyumun bir bileşeninde meydana gelen patolojik değişikliklerin, periodonsiyumun diğer bileşenlerinin sağlığının idamesi, onarımı veya rejenerasyonu için önemli etkileri olabilmektedir (Bartold ve Walsh, 2000).

2.1.1. Diş Eti

Sağlıklı bireylerde periodonsiyumun yapıları arasında klinik gözlemle görülebilen yapıdır. Normal diş eti soluk pembe renktedir (mercan pembesi), keratinizasyon derecesine ve pigmentasyonuna bağlı olarak klinik olarak mukogingival hat ile oral mukozadan (genellikle koyu kırmızı renkte) ayrılır (Hassell, 1993). Diş eti, anatomik olarak serbest diş eti, yapışık diş eti ve interdental diş eti olmak üzere üç kısımdan oluşur (Cohen, 1959). Her biri yapısal ve histolojik olarak farklı olmasına rağmen, fiziksel ve mikrobiyolojik etkenlerin daha derin dokulara zarar vermesine karşı koruma sağlarlar (Ainamo ve Talari, 1976). Histolojik olarak ise, üstte epitelyal yapılar altta bağ doku olmak üzere iki farklı bileşenden oluşmaktadır. Epitel kısmı ağırlıklı olarak hücresel yapılardan oluşmakla beraber bağ dokusu kısmında ise daha az hücre bulunmaktadır. Bağ doku daha çok proteinler, mineraller ve kollajen liflerin bir arada bulunduğu bir ağdan oluşmaktadır. Bu iki kısım gingivitis ve periodontitise karşı erken konak yanıtından sorumludur (Bartold ve ark., 2000).

Diş Etinin Makroskopik Özellikleri

Diş etinin morfolojisi genellikle dişlerin şekline ve konumuna göre şekillenmiştir (Olsson ve ark., 1993; Olsson ve Lindhe, 1991). Diş eti; serbest diş eti kenarı ile mukogingival sınır arasında uzanır ve serbest diş eti oluğu ile serbest diş eti ve yapışık diş eti olmak üzere iki kısma ayrılır. Serbest diş eti oluğu ise serbest diş eti kenarına paralel olarak 0.5-1.5 mm altından V şeklinde uzanan oluk olarak tanımlanmıştır (Gibbs ve ark., 2019; Orban, 1948). Serbest diş eti genellikle yaklaşık 1 mm genişliğindedir ve diş eti sulkusunun yumuşak doku duvarını oluşturur (Mattos ve Santana, 2008). Diş eti sulkusu ise serbest diş eti ile diş arasındaki oluk olarak tanımlanmaktadır. Diş eti sulkusunun derinliğinin klinik olarak belirlenmesi önemli bir tanı kriteridir. Sağlıklı bireylerde bu sulkusun derinliği farklılıklar gösterebilir. Mukogingival sınır ile serbest diş eti arasında kalan kısım yapışık diş etidir ve kollajen lifleri ile altındaki periosta sıkıca bağlıdır. Yapışık diş etinin genişliği diştan dişe ve bireyler arasında değişiklik gösterir aynı zamanda yaşla birlikte artma eğilimindedir. Genellikle anterior bölgelerde (maksilla anterior bölgede 3.5-4.5 mm, mandibula anterior 3.3-3.9 mm) daha geniş olmakla birlikte posterior bölgelere (maksiller birinci premolar 1.9 mm, mandibula birinci premolar 1.8 mm) doğru genişliği azalmaktadır. Periodontal dokuların sağlığının korunması için kesin bir yapışık diş eti genişliği alt sınırı yoktur (Ainamo ve ark., 1981; Wennström ve Lindhe, 1983). Yapışık diş etinin yüzeyi sıklıkla portakal kabuğu şeklinde girintili çıkıntılı bir görünüm sergiler ve bu görüme “stippling” yapısı denir. Stippling yapısı en iyi olarak kuru diş eti yüzeyinde net bir şekilde gözlenir. Kişiden kişiye ve ağzın farklı bölgelerinde değişkenlik gösterir (Greene, 1962; Hassell, 1993). Stippling yapısının azalması veya kaybolması, enflamasyonun serbest diş etinden yapışık diş etine doğru ilerlediğini gösterebilir (Carranza ve Newman, 1996; Greene, 1962; Kyllar ve ark., 2010). Sağlıklı

bireylerde, dişlerin kontakt noktalarındaki embrajürler diş eti ile kaplanmıştır bu kısımdaki diş etine interdental diş eti veya interdental papil denir. İnterdental papillanın miktarı dişler arasındaki kontakt varlığına, kontakt noktası ile alveol kreti arasındaki mesafeye ve diş eti kenarı pozisyonuna göre değişir (Tarnow ve ark., 1992).

Diş Etinin Mikroskopik Özellikleri

Epitel doku, vücudu çevresinden ayıran eşsiz bir bariyerdir. Oral mukozanın temel yapısı insan derisine benzer. İki katmanlı olan bu yapı, üstte hücresel anlamda zengin olan keratinize çok katlı yassı epitel ve altta ağırlıklı olarak kollajen liflerden oluşmuştur. Bağ dokusu katmanı ayrıca damarları, lenf sistemini, sinir sistemini içermektedir (Squier ve Kremer, 2001). Diş eti epiteli çok katlı yassı epitel olmasına rağmen, sulkuler epitel ve birleşim epiteli keratinize değildir (Schroeder ve Listgarten, 1997). Diş eti bağ dokusu diş etine sıkılık sağlayan, altındaki semente ve alveol kemiğine sıkıca tutunmasını sağlayan yoğun bir kollajen lif ağından oluşmuştur. Diş eti bağ dokusu ayrıca bağışıklık sistemi, enflamatuvar sistem ve vasküler sistem hücreleri açısından zengindir (Groeger ve Meyle, 2015). Ciltteki orto-keratinize epidermisin aksine oral epitel, keratinositlerin üç ana farklılaşma paternini ifade eder. Anatmik ve fonksiyonel olarak diş eti keratinizasyon paterni, tamamen sürmüş dişlerin çevresindeki dokulara göre gelişir. Örneğin, çiğneme ve diğer mekanik kuvvetlerle karşılaşan bölgelerde epidermise benzer bir keratinize epitel sergilenmektedir. Mukogingival birleşim bölgesi, hareketli alveol mukozadan ve ağız tabanının mukozasından gelen diş etinin sınırını belirler. Ağız tabanı ve bukkal kısmının konuşma, yutma veya çiğneme için esnek olması gerekir ve keratinize olmayan bir örtücü mukoza ile kaplıdır. Dilin dorsumundaki özel mukoza bir dizi papilla içerir ve hem keratinize hem de keratinize olmayan bir epitel ile kaplıdır. Fizyolojik koşullar altında epitel bariyeri, çözünmüş maddelerin ve besin maddelerinin düzenlenmiş

paraselüler akışlarına ve ayrıca antijenlerin toplanmasına ve mukozal bağışıklık hücreleri tarafından gözetimine izin verir (Groeger ve Meyle, 2019). Dış eti epitelinin karakteristik özelliği, deriye göre çok daha yüksek olan doku devinimi özelliğidir (Narayanan ve Page, 1983; Sodek, 1977). Bu yüksek devinim hızı sayesinde bakteri penetrasyonuna karşı etkili bir bariyer sağlar. Yapılan çalışmalarda epitelyal devinim hızı primatlarda 5-11 gün ve ratlarda 3-5 gün olarak bulunmuştur (Demetriou ve Ramfjord, 1972; Kirschner ve Ruhl, 1969; Skougaard, 1970). Dış eti epitelinin koruyucu işlevi, epitel yüzeyine hem lubrikant özellik sağlayan hem de içerdiği Ig A ve lizozim enzimi sayesinde antimikrobiyal etki sağlayan tükruk salgısı ile güçlendirilir (Mestecky, 1993; Moutsopoulos ve ark., 1980). Keratinler epitel hücre iskeletinin önemli bir bileşenidir. Sitoskeletal proteinlerin ara filament grubuna aittirler. Keratin proteinleri, izoelektrik noktaları ve moleküler ağırlıkları ile karakterize edilen farklı polipeptit alt birimlerinden oluşur. Genel olarak bazal hücreler, düşük moleküler ağırlıklı keratinleri sentezlemeye başlar ve yüzeye göç ettikçe diğer yüksek moleküler ağırlıklı keratinleri eksprese ederler. K1 keratin polipeptidi, stratum corneum'un ana bileşenidir (Clausen ve ark., 1986). Keratinlerle ilgisi olmayan diğer proteinler, olgunlaşma işlemi sırasında sentezlenir. Bu proteinlerden en kapsamlı olarak incelenenler, keratohyalin granüllerinin paketlenmiş öncüleri olan filaggrin ve hücre zarının altında bulunan kimyasal olarak dirençli bir yapının öncüleri olan keratolinin ve involucrinidir. Boynuzumsu tabakaya geçişte, keratohyalin granülleri kaybolur ve en farklılaşmış epitelyal hücre olan korneositin matrisini oluşturan filaggrine farklılaşır (Newman ve ark., 2011). Böylece, tamamen farklılaşmış durumda korneositler esas olarak amorf bir filaggrin matrisine gömülmüş ve hücre zarı altında dirençli bir zarfla çevrelenmiş keratin tonofilament demetleri tarafından oluşturulur. Farklı keratin tiplerinin, zarf proteinlerinin ve filaggrinlerin immünohistokimyasal modelleri normal

veya patolojik uyaranlar altında değişir, böylece keratinizasyon süreci modifiye edilir (Itoiz ve ark., 1986; Itoiz ve ark., 1985; Itoiz ve ark., 1984). Epitel hücrelerinde keratinositlerin dışında merkel hücreleri, melanositler ve langerhans hücreleri bulunmaktadır. Merkel hücreleri, sinir uçlarını barındırır bu sayede dokunsal algılayıcı olarak tanımlanırlar (Ness ve ark., 1987). Melanositler, diş eti epitelinin bazal ve spinosum katmanlarında bulunan dendritik hücrelerdir. Melanin pigmentinin sentezinden sorumludurlar (Cleaton-Jones ve ark., 1978; Schroeder, 1969). Langerhans hücreleri, tüm suprabasal seviyelerde keratinositler arasında yer alan dendritik hücrelerdir. Kemik iliğinden türetilen modifiye edilmiş monositler olarak retiküloendotelyal sisteme aittirler. Langerhans hücreleri, lenfositler için antijen sunan hücreler olarak bağışıklık reaksiyonunda önemli bir role sahiptir. Birbeck granülleri içerirler ve belirgin adenosin trifosfataz aktivitesine sahiptirler. Normal diş eti oral epitelinde ve daha az miktarlarda sulkuler epitelde bulunurlar (Newman ve ark., 2011). Diş eti epiteli altındaki bağ dokusuna bazal lamina ile bağlanır. Bazal lamina lamina lucida ve lamina densa'dan oluşur. Hemidesmozomların bulunduğu LL takabakası bir glikoprotein olan laminin den oluşmaktadır. Lamina densa ise tip IV kollajenden oluşur (Kurahashi, 1962; Stern, 1965). Sağlıklı diş eti bağ dokusunun yaklaşık olarak % 60-65'i kollajen liflerden oluşmuştur (Arnim ve Hagerman, 1953). Bağ dokusunun diğer daha az yaygın elementleri arasında fibroblast hücreleri (yaklaşık % 5), diğer hücreler (çeşitli lökositler, mast hücreleri, doku makrofajları, vb. % 3) bulunmaktadır. Geriye kalan % 35'lik kısım ise proteoglikanlar, glikoproteinler, damarlar ve sinirlerden oluşmaktadır (Narayanan ve Page, 1983; Schroeder ve ark., 1973). Diş eti bağ dokusundaki kollajen lifleri, gingival fiberler denilen demetleri oluştururlar. Bu demetler: Dentogingival lifler, alveologingival lifler, sirküler lifler ve dentoperiosteal liflerdir. Bu temel grupların yanı sıra minör kollajen lifleri olarak

periostogingival lifler, interpapiller lifler, transgingival lifler, intersirküler lifler, intergingival lifler ve semi-sirküler lifler bulunmaktadır (Tablo 2.1.). Bu lif kompleksinin ana fonksiyonları serbest diş etine direnç sağlamak ayrıca yapışık diş etine kontur ve destek sağlamaktır (Hassell, 1993; Page ve ark., 1974).



Tablo 2.1.: Dentogingival lifler

Kollajen Lifler	Görevleri
Dentogingival Lifler	Diş etine destek sağlar
Alveologingival Lifler	Diş etini kemiğe bağlar
Dentoperiosteal Lifler	Dişlerin kemik içerisinde kalmasını sağlar ve PDL'yi korur
Sirküler Lifler	Serbest diş etini destekler
Trasseptal Lifler	Komşu dişler arasında uzanır ve interproksimal kemiği destekler
Periostogingival lifler	Diş etini kemiğe bağlar
İnterpapiller Lifler	İnterdental diş etini destekler
Transgingival Lifler	Dişlerin soket içerisinde stabil kalmasını sağlar
İntersirküler Lifler	Dişlerin soket içerisinde stabil kalmasını sağlar
İntergingival Lifler	Yapışık diş etini destekler
Semi-sirküler Lifler	Dişlerin soket içerisinde stabil kalmasını sağlar

Hassell, 1993'ten alınarak türkçeleştirilmiştir.

Diş eti bağ dokusunda en yaygın ve fonksiyonel olarak en önemli olan hücre fibroblastlardır. Diş eti bağ dokusundaki hücrelerin % 65'ini oluştururlar (Schroeder ve ark., 1973). Fibroblastların görevi yapısal bağ dokusu proteinleri, kollajen ve elastinin yanı sıra PDL'nin esas proteinleri olan glikoproteinleri ve glikozaminoglikanları üretmektir. Periodontal fibroblastlar ayrıca aktif bir kollajenaz olan matriks

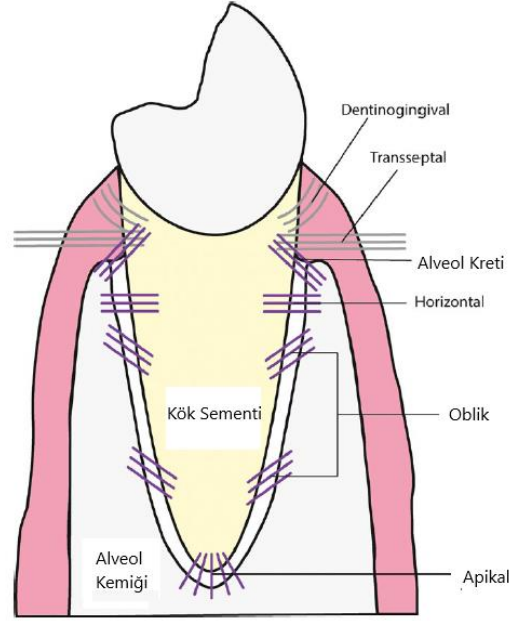
metaloproteinazlar (MMP) olarak bilinen enzimleri salgırlar. Bu enzimler hücre dışı matriksi parçalama kapasitesine sahiptir (Birkedal-Hansen, 1988; Birkedal-Hansen ve ark., 1976; Birkedal-Hansen ve ark., 1985; Page, 1991; Pettigrew ve ark., 1978). Fibroblastlara ek olarak, periodontal dokuları yıkıma uğratan MMP ve diğer enzimler, keratinositler ve doku makrofajları tarafından da üretilir (Meikle ve ark., 1989). Normal koşullar altında, periodontal fibroblastlar hücre dışı matriksi üretirler, muhafaza ederler ve modifiye edebilirler (Page, 1991).

2.1.2. Periodontal Ligament

PDL bir tarafta dişlerin sementine diğer tarafta alveol kemiğe sıkıca bağlanmış bir fibröz lif ağından oluşmuştur. Çiğneme esnasında meydana gelen yüksek kuvvetlere karşı dişleri ve alveol kemiğini korur. Ek olarak, diş eti ile birlikte PDL, ağız boşluğundaki patojenlere karşı koruyucu bir bariyer oluşturur ve içerisindeki sinir ağı sayesinde çiğneme sisteminin duysal olarak kontrol edilmesini sağlar (Beertsen ve ark., 1997; Trulsson, 2006). PDL ve destekleyici alveol kemiğin kaybına yol açan yaygın olarak ortaya çıkan ve ilerleyici bir hastalık olan periodontitis tarafından PDL hasar görürse bu kapasiteler bozulur. Tedavi edilmezse, periodontitis sonucunda diş kaybına neden olur (Page ve Kornman, 1997). PDL, alveol kemik ve kök sementi arasında 100-400 µm genişliktedir (Beertsen ve ark., 1997; De Jong ve ark., 2017). Geniş bir damar, sinir ağı ve hücre popülasyonlarının çeşitliliği ile heterojen bir dokudur (Nanci ve Bosshardt, 2006). Bunlar arasında kemik hücreleri, sement hücreleri, malessez epitel artıkları, endotel hücreleri, sinir hücreleri ayrıca kemik ve sement için öncü hücreler bulunmaktadır (Beertsen ve ark., 1997; Melcher, 1976; Tomokiyo ve ark., 2019). Bununla birlikte PDL de en çok bulunan hücre fibroblastlardır. Fibroblastlar PDL'deki liflerin fonksiyonel

birleşenini oluşturur ayrıca hücre dışı matriksin sentezlenmesinden ve düzenlenmesinden sorumludurlar (Hirashima ve ark., 2020; Lekic ve Mcculloch, 1996). PDL'nin yapısal olarak sağlamlığından sorumlu olan yapı ise kollajen liflerdir. Esas olarak tip I kollajen lifler (Sharpey lifleri) ve daha az miktarda tip III kollajen lifler bulunur. Bu kollajen lifler 54-59 nm çapında çapraz bantlı fibriller oluştururlar (Beertsen ve ark., 1997). PDL'de IV, V, VI ve XII tipleri de dâhil olmak üzere birkaç küçük kollajen de bulunur. Minör kollajenlerden tip V kollajen, PDL fibrilleri ile ilişkilidir (Becker ve ark., 1991; Kuhn ve ark., 1987). PDL'nin kollajen fibrillerinin çoğunluğu, PDL'nin mineralize olmayan merkezi kısmı, ana lifler adı verilen iyi tanımlanmış fiber demetlerinde düzenlenmiştir. Ana lifler, diş kökleri boyunca konumlarına ve yönlerine göre sınıflandırılır (Nanci ve Bosshardt, 2006). PDL'deki ana lifler dentinogingival, transseptal ve alveolodental lifler olarak sınıflandırılabilir. Dentinogingival lifler sementumdan interproksimal diş etine kadar eğik-koronal bir yönde uzanır; transseptal lifler bir dişin sementumundan uzanır ve alveol kretine bitişik dişin sementumuna geçer. Alveolodental lifler, PDL hacminin büyük kısmını temsil eder ve alveol kret lifleri, horizontal lifler, oblik lifler, apikal lifler ve çok köklü dişlerde interradyiküler lifleri içerir. Alveol kret lifleri, kökün servikal kısmından eğimli ve apikal bir doğrultuda alveol kemik kretine uzanır. Alveol kret liflerinden apikalde olan yatay lifler, sementumdan alveol kretine dik bir yönde uzanır. Oblik lifler PDL'deki en çok sayıda olan liftir ve sementumdan alveol kemiğine eğik-koronal bir yönde uzanırlar. Apikal lifler kök ucundan alveol kemiğine doğru uzanır. İntraradyiküler lifler sadece çok köklü dişlerde bulunurlar ve radyiküler sementumdan interradyiküler alveol kemiğine uzanırlar (Şekil 2.1.) (De Jong ve ark., 2017).

Şekil 2.1.: PDL lifleri



De Jong ve ark., 2017'den alınarak türkçeleştirilmiştir.

2.1.3. Sement

Sementum, dişlerin köklerini kaplayan ve PDL'nin kollajen lifleri aracılığıyla diş alveol kemiğine tutturmaya yarayan mineralize doku olarak tanımlanmaktadır. Sementum kök uzunluğu boyunca morfolojik, histolojik ve fonksiyonel farklılıklar gösterir (Cho ve Garant, 2000). Bu farklılıklara göre sementum; intermediate sementum (mine-sement birleşiminde), aselüler sementum (kökün koronal ve orta kısımlarında) ve selüler sementum (sementoblast içeren bu kısım kökün apikal ve radiküler kısımlarında) olarak sınıflandırılır (Saygin ve ark., 2000). Sementum, kalsifiye kollajen sharpey liflerini, kollajenleri, proteoglikanları, glikozaminoglikanları ve inorganik hidroksiapatit minerallerini içermektedir. Sementumun inorganik içeriği (hidroksiapatit kristalleri) %

45-50 arasındadır (Atilla ve Baylas, 1996; Zipkin, 1970). Sementumun en önemli yapısal organik bileşici kollajenlerdir. Başlıca kollajen tipi, tüm kollajenlerin % 90'ını oluşturan ve mineralizasyon işlemi sırasında yapısal bir rol oynayan ve art arda intrafibriler apatit kristallerine dönüşen hidroksiapatit çekirdeklenmesi için bir rezervuar görevi gören tip I kollajendir. Tip I kollajen fibrilleri ile düşük miktarlarda Tip III kollajen de mevcuttur (Glimcher, 1989; Sculean ve ark., 2015; Vidal ve ark., 1974). Sementumda bulunan ana glikozaminoglikanlar; hiyalüronik asit, dermatan sülfat ve kondroitin sülfattır. Sementum, osteopontin ve kemik sialoprotein gibi bazı büyük fosfoproteinler de dâhil olmak üzere birçok kollajen olmayan protein içerir. Bu proteinler, hidroksiapatit kristal çekirdeklenmesi ve büyümenin düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Osteopontin ve sialoprotein, yüksek dereceli tip I kollajen fibrillerde kristal oluşumunun başlaması için gerekli olduğu ileri sürülmüştür (Bosshardt ve ark., 1998; Jang ve ark., 2014; Nanci, 1999; Roach, 1994). Sementum'un dişleri sokette tutmasının yanı sıra başka bir önemli fonksiyonu da oklüzal kuvvetleri dengelemektir. Oklüzal kuvvetlerin etkisiyle, dişlerin oklüzal ve insizal yüzeyleri aşındığından, kayıp maddeyi telafi etmek için diş erüpsiyonu meydana gelir ve apikal kök bölgesinde yeni sementum birikimi meydana gelir (Hassell, 1993).

2.1.4. Alveol Kemiği

Alveol kemiği, maksilla ve mandibulanın diş soketlerini oluşturan ve destekleyen kısımdır. Dişler sürmeye başladığında oluşur ve dişler kaybedildikten sonra alveol kemiği de yavaş yavaş kaybolur. Bu nedenle; dişlerin boyutu, şekli, yeri ve işlevi morfolojilerini belirler. Alveol kemiği dış tarafta bir kortikal kemik plakası ve iç tarafta ise ince bir soket duvarından (iç soket duvarı) oluşmuştur. İç soket duvarı radyografilerde lamina dura

olarak izlenen yapıdır. İç soket duvarı yapısında açıklıklar bulundurur ve bu yapılar histolojik olarak incelendiğinde ise periodontal ligament ile alveol kemiği arasındaki nörovasküler yapıların bağlandığı kribriiform tabaka olarak adlandırılır. Bu iki kompakt tabaka arasında ise süngerimsi trabeküler tabaka bulunur ve alveol kemiği destekleyen tabakadır (Newman ve ark., 2011). Alveol kemiği üçte iki oranında inorganik maddelerden ve üçte bir oranında ise organik maddelerden oluşmuştur. İnorganik kısım büyük oranda kalsiyum ve fosfat minerallerinden oluşmuştur. Bunların yanında ise; hidroksil, karbonat, sitrat ve eser miktarda sodyum, magnezyum gibi iyonları içermektedir (Glimcher, 1987; Glimcher ve ark., 1964; Monje ve ark., 2015). Organik matriks esas olarak tip I kollajenden (% 90) oluşmuştur. Bununla birlikte daha az miktarda kollajen yapıda olmayan; osteokalsin, osteonectin, bone morfojenik protein (BMP), fosfoprotein ve proteoglikanlar gibi proteinleri içerir (Eastoe, 1956; Muhlemann ve ark., 1954; Ritchey ve Orban, 1953; Tompkins, 2016). Alveol kemik dokusu sürekli olarak iç organizasyonunu değiştirir de, çocukluktan yetişkin yaşamına kadar yaklaşık olarak aynı formu korur. Alveol kemiğindeki remodelasyon sayesinde; osteoblastlar tarafından yeni kemik yapımı olurken, osteoklastlar tarafından kemik yıkımı ile dengelenir. Remodelasyon sayesinde dokudaki kalsiyum ve fosfat homeostazı sağlanır (Ogasawara ve ark., 2004; Sodek ve Mckee, 2000).

2.2. PERİİMLANT DOKULAR

Periodonsiyum ile eşzamanlı olarak gelişen ve bu dokularla uyum içerisinde kalan dişlerin aksine, endosteal implantlar osseöz dokudan oluşan bir alıcı bölgeye yerleştirilir. Çevredeki dokuların yerleştirilen implantlara uyum sağlaması ve fonksiyonlarını normal periodonsiyumdaki gibi devam ettirmeleri beklenir. Yapılan çalışmalara göre, endosseöz

implantları çevreleyen yumuşak dokuların yapısı birçok yönden periodontal dokulara benzemektedir (Cochran ve ark., 1997; Listgarten ve ark., 1991; Renvert ve ark., 2018; Schroeder ve ark., 1981; Weber ve Cochran, 1998).

2.2.1. Periimplant Mukoza

Periimplant mukoza keratinize oral epitel, sulkuler epitel, birleşim epiteli ve bağ dokusundan oluşmuştur. İmplant yüzeyi ile epitel hücreleri arasında hemidesmozomlar ve bazal lamina bulunur (James, 1973; Renvert ve ark., 2018). Doğal dentisyonda olduğu gibi sulkuler epitel, oral epitelin keratinize olmayan bir uzantısına benzer. Sulkuler epitelin apikal kısmı, her iki doku arasında bir süreklilik oluşturan birleşim epitelinin koronal hücreleri ile kaplıdır. Birleşim epiteli, implant ve çevresindeki diş eti arasında epitelyal birleşme sağlar. Birleşim epiteli bazal lamina ve hemidesmozamlar aracılığıyla implant yüzeyine tutunur (James, 1973; Listgarten ve ark., 1991).

Periimplant dokulardaki kollajen yapıların dağılımı normal dişlerden farklı olarak implant yüzeyine paralel uzanır. Periimplant mukozadaki tip I, III, IV ve VII kollajenlerin dağılımı normal diş etiyle benzerdir. Ancak tip V ve VI kollajenlerin dağılımı farklılıklar gösterir (Derks ve Tomasi, 2015). Tip V kollajenin implant çevresindeki dokularda fazla olması, implant çevresi yumuşak dokuların kollajenaz direncinin fazla olmasıyla ilişkilidir (Carmichael ve ark., 1991).

Periimplant mukozanın implant yüzeyine bakan kısmı iki farklı kısımdan oluşur. Koronal kısımda kalan kısım, diş etinde olduğu gibi ince bir birleşim epiteli ve sulkuler epiteli içerir. Bağ dokusunun implant yüzeyi ile doğrudan temas halinde olduğu daha apikal segment ise bağ dokusu adezyon bölgesi olarak adlandırılır (Araujo ve Lindhe, 2018). Birleşim epitelinin ve sulkuler epitelin hemen lateralinde olan bağ dokusunda,

dentogingival vasküler pleksusa benzer hassas bir vasküler yapı pleksusu sürekli olarak bulunurken, bağ dokusu adezyon bölgesinin sadece sınırlı miktarda vasküler yapı barındırdığı bildirilmiştir (Berglundh ve ark., 1994; Egelberg, 1966).

Bağ dokusu adezyon bölgesi elektron mikroskopunda incelendiğinde, iki ayrı katmandan oluştuğu gözlenmiştir: İmplantın yüzeyi ile yakın temas halinde görünen yaklaşık 40 μm genişliğindedir. Büyük miktarlarda fibroblast (hacimce % 32) barındıran bir iç katman; kollajen liflerin ağırlıklı olduğu (% 83), daha az miktarlarda fibroblastları (% 11) barındıran ve hacimsel olarak fazlaca vasküler yapıların (% 3) bulunduğu 160 μm genişliğinde bir dış katman (Moon ve ark., 1999).

Periimplant mukozadaki sondalama derinliğinin araştırıldığı çalışmalara göre; sondalama derinliğinin hem dişlerde hem de implantlarda fasiyal/bukkal yüzeylere göre, proksimalde daha fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca implant çevresindeki, sondalama derinliğinin diş bölgelerine göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar implant çevresindeki mukozanın, normal diş çevresindeki diş etine göre daha az sondalama direnci gösterdiğini ortaya koymuştur. İmplant yüzeyinde kök sementumunun olmaması ve kollajen liflerin oryantasyonundaki farklılığın, implant çevresindeki sondalama direnci ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Parpaiola ve ark., 2015; Tarnow ve ark., 1992).

Periimplant mukozanın transmukozal sondalanması ile ilgili yapılan çalışmalara göre, periimplant mukozanın diş çevresindeki normal diş etine göre hem bukkalde hem de proksimal yüzeylerde 1.0 – 1.5 mm fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, "düz-kalın" periodontal fenotipi olan hastaların, "taraklı-ince" biyotipe ait bireylere göre daha büyük periimplant mukoza boyutları sergilediği gösterilmiştir (Kan ve ark., 2003; Ochsenbein ve Ross, 1969; Romeo ve ark., 2008; Seibert ve Lindhe, 1989). Ek olarak, implant destekli

bir restorasyon ile doğal bir diş arasındaki papilla yüksekliğinin ≤ 5 mm olduğu ve bu durumun komşu diş çevresindeki bağ dokusu ataçman düzeyiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Choquet ve ark., 2001; Gastaldo ve ark., 2004; Kan ve ark., 2003; Ryser ve ark., 2005; Tarnow ve ark., 1992). İki komşu implant restorasyonu arasındaki papilla boyutu ise ortalama 3 mm olarak hesaplanmıştır ve yüksekliğin destekleyici kemik yüksekliğine bağlı olduğu gözlenmiştir (Degidi ve ark., 2008; Gastaldo ve ark., 2004).

Periimplant mukoza, implant bölgelerinin hepsinde olmasa da pek çok yerinde bulunan çiğneme mukozasını tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Keratinize mukoza, periimplant mukozadan hareketli oral mukozaya uzanır. Keratinize mukoza, ortokeratinize skuamöz epitel tarafından kaplanan bir lamina propriadan (fibroblastlar ve eşit miktarlarda tip I ve tip III kollajen içeren lifli bağ dokusu) oluşur. Dişlerin fasiyal/bukkal tarafındaki keratinize mukozanın genişliği kural olarak kontralateral implant bölgelerinden yaklaşık 1 mm daha büyüktür (Chang ve Wennstrom, 2013; Chang ve ark., 1999; Parpaiola ve ark., 2015). Periimplant doku sağlığını korumak için minimum miktarda keratinize mukoza ihtiyacı, tartışmalı bir konudur. Birçok çalışma, keratinize mukoza eksikliğini mukozal enflamasyonla ilişkilendiremedi, diğer çalışmalar <2 mm keratinize mukozaya sahip olan implant bölgelerinde plak oluşumunun ve marjinal enflamasyonun daha sık olduğunu öne sürmektedir (Adibrad ve ark., 2009; Boynueğri ve ark., 2013; Chung ve ark., 2006; Krekeler ve ark., 1985; Roccuzzo ve ark., 2016; Schrott ve ark., 2009).

2.2.2. Periimplant Destekleyici Kemik

İmplant diş hekimliğinde birincil veya mekanik stabilite, başarılı osseointegrasyon için bir ön koşul olarak kabul edilmektedir. İmplant yerleştirilecek olan

bölgenin alveol kemik yapısı, yerleştirilecek endoosseoz implantın başarısını belirler. İmmediat ve geç implantasyondan sonra, konak dokuların alloplastik materyali doğal kemik yapısına biyolojik olarak entegre ettiği bir dizi hücresel ve moleküler olay gerçekleşir (Pellegrini ve ark., 2018). Kortikal kemik daha çok implanta mekanik destek sağlayarak primer stabiliteye yardımcı olurken, süngerimsi kemik vasküler yapılardan zengin olduğu için mezenkimal öncü hücrelerin bölgeye ulaşmasını sağlar. İmplant yüzeyinde kemik oluşumu, fiksasyondan sonra kemik hücreleri tarafından doldurulan temas osteogenezi veya kemik oluşumunun öncesinde mevcut osteoklastogenez ile gerçekleşen mesafe osteogenezi yoluyla gerçekleşebilir. Dental implantlar yerleştirildikten sonra, osseointegrasyonu sağlamak için bir dizi immün-enflamatuvar yanıt, ardından anjiyogenez ve sonunda osteogenez gerçekleşir. Bu osteogenez süreci, implantların yüzey topografisinden, protein adsorpsiyonunu kolaylaştıran hidrofilik özelliğinden ve implant yüzey özelliklerinden etkilenir (Aghaloo ve ark., 2019). Osteogenez sürecinde ilk olarak, trombin ve fibrinojen implant yüzeyine yapışır. Daha sonra nötrofiller, monositler ve makrofajlar bölgeye sızmadan önce implant alıcı bölgesini doldurur. Bu olaylar, titanyum oksit tabakası etrafında kollajen matris birikimini uyaran sitokinleri ve büyüme faktörlerini serbest bıraktıklarından erken homeostazda önemli bir rol oynarlar. 8 ila 12 haftalık bir sürede, lamellar kemik biyolojik stabiliteyi, yani osseointegrasyonu başlatır (Davies, 2003).

Albrektsson ve Sennerby, osseointegrasyonu “canlı kemik ve yük taşıyan bir implantın yüzeyi arasında doğrudan fonksiyonel ve yapısal bir bağlantı” olarak tanımlamıştır (Albrektsson ve Sennerby, 1991). İmplant-kemik teması ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, 6 hafta ila 3 aylık bir iyileşme döneminden

sonra kemik (mineralize doku) ile implant temasının miktarının yaklaşık % 60 olduğu bildirilmiştir (Cecchinato ve ark., 2012; Lang ve ark., 2011).

İmplant yerleştirilmesi ve yüklemesini takiben, kemikte remodelasyon süreci başlar ve bu süreçte bir miktar krestal kemik kaybı meydana gelir. Hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, implant abutment arayüzünün lokalizasyonunun, başlangıçta meydana gelen marjinal kemik kaybının miktarını belirlediği bildirilmiştir (Broggini ve ark., 2003; Broggini ve ark., 2006; Cochran ve ark., 2013). Bu nedenle, iyileşme aşamasında meydana gelen krestal kemik kaybının miktarı, markalar arasında değişmektedir ve kullanılan implant sisteminin tasarımı ile ilişkili görünmektedir (Albrektsson ve ark., 1986; Albrektsson ve Zarb, 1993; Jemt ve Johansson, 2006; Jemt ve Lekholm, 1995; Roos ve ark., 1997). Bu erken krestal kemik kaybı sürecinden sonra implantların yaklaşık % 75'i ek kemik kaybı yaşamaz ve osseointegrasyon gerçekleşir. Krestal kemik kaybının >1 mm'den fazla olduğu implant bölgelerinde periimplant mukoza sağlıklı gibi görünse de bu kemik kaybının yumuşak doku iltihabı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Derks ve ark., 2015).

Periimplant destekleyici kemiğin yapısını incelemek amacıyla yapılan kısmen dişsiz denekleri içeren bir çalışmada, maksilladan ve mandibuladan trepan frezler kullanılarak sert doku biyopsileri alınmıştır. Periimplant destekleyici kemiğin, esas olarak lamellar kemik (% 43) ve kemik iliğinden (% 23) oluştuğu aynı zamanda az miktarlarda fibröz (% 12) ve osteid (% 4) dokunun bulunduğu gözlenmiştir. Lamellar kemiğin yoğun olarak bulunduğu kortikal tabaka ise mandibulada (1.8 mm), maksilladan (0.8 mm) daha geniş olarak bulunmuştur ve anterior maksillanın, anterior mandibulaya göre daha dar olduğu gözlenmiştir (Lindhe ve ark., 2013).

2.3. PERİODONSIYUM VE PERİİMLANT DESTEK DOKULARININ KARŞILAŞTIRMALI ANATOMİSİ, HİSTOLOJİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Sağlıklı bir periodonsiyum ile periimplant dokular klinik olarak incelendiğinde, aralarında belirgin bir fark gözlenemez. Bununla birlikte sondalama derinliği periimplant mukozada daha fazladır. Ayrıca dental implant bölgelerindeki interproksimal papiller, normal diş çevresindeki papillerden daha kısa gözlenebilir (Berglundh ve ark., 2018a).

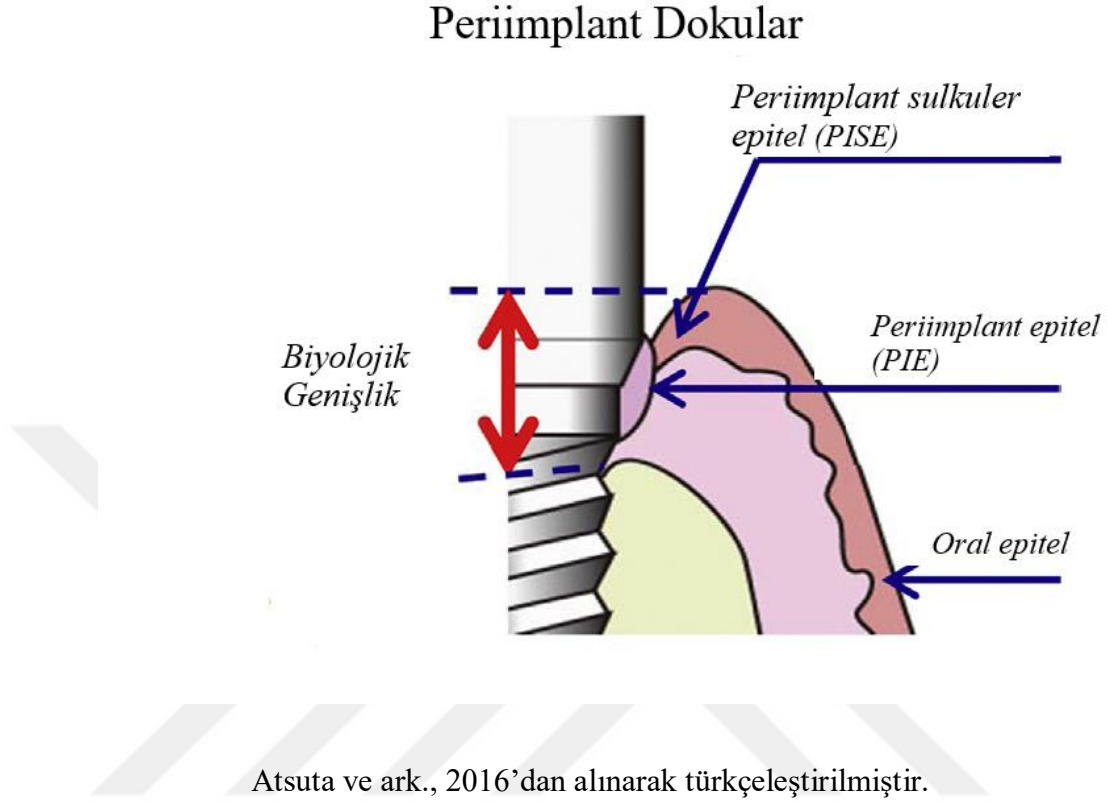
Diş eti epiteli üç tip epitelden oluşur: Birleşim epiteli, sulkuler epitel ve oral epitel. Doğal bir dişin çevresindeki birleşim epiteli, geniş bir hücre içi boşluk ile karakterizedir, bundan dolayı sadece zayıf hücreler arası bağlantılara sahip olan ve dış faktörlerden etkilenebilen keratinize olmayan bir epitelidir. Bu sebepten dolayı birleşim epitelinin farklı bir savunma mekanizması vardır: Kemotaktik aktiviteye sahip nötrofiller tarafından dış faktörlerin endostoz yoluyla inhibe edilmesi; diş eti oluğu sıvısının (DOS) kendi kendini temizleme ve antibakteriyel etkisi; birleşim epitelinde meydana gelen devinim; birleşim epitelinin yaptığı endostoz (Ayasaka ve Tanaka, 1989; Yamaza ve ark., 1997).

Ağız boşluğu sürekli olarak fiziksel, kimyasal ve bakteriler tarafından müdahalelere maruz kalmaktadır. Oral epitel kalın mukozal yapısı sayesinde, sert ve yumuşak dokuları bu etkenlere karşı korur. Bununla beraber, dişlerin oral kaviteye sürmesi submukozal dokuların dışardan gelen etkenlere karşı korunmasız olmasına neden olur. Bu durumu engellemek için diş eti ile diş arasında sıkı bir bağlantı oluşmaktadır. Dişlerin etrafındaki bu bağlantı hem epitel dokuları hem de bağ dokusunu içerir ve sulkuler epitelin tabanından alveol kemiğin tepesine kadar uzanır. Bu bağlantı ortalama olarak 2 mm genişliğindedir ve “biyolojik genişlik” olarak adlandırılır. Biyolojik genişliğin 0.5 – 1.5 mm’sini birleşim epiteli oluştur. Periodonsiyumda meydana gelen

enflamasyonlar, bu adezyon yapılarını tahrip ederek hastalığın daha derin periodontal dokulara kolayca yayılmasını sağlar (Atsuta ve ark., 2016).

İmplant çevresindeki mukozada üç tip epitel vardır: Periimplant epitel (PIE), periimplant sulkuler epitel (PISE) ve oral epitel (Şekil 2.2.) (Atsuta ve ark., 2016; Buser ve Bragger, 1989; Gould ve ark., 1984; Schroeder ve ark., 1981). İmplant çevresindeki biyolojik genişlik normal diş çevresindeki biyolojik genişlikten daha fazladır ve ortalama 3-4 mmdir (Berglundh ve Lindhe, 1996). PIE, implant yerleştirildikten 2-3 hafta sonra oral epitelden gelişir ve birleşim epiteline benzer bir epitelyal ataçman gösterir. Morfolojik olarak PIE 3-4 hücrelik ince bir tabakadan oluşur ve altta yatan dokuyu dış etkenlerden koruyan geniş bir hücre içi boşlukta immünoglobulinler, nötrofiller, lenfositler ve plazma hücrelerine sahiptir (Ikeda ve ark., 2000). Oral mukoza, implant yerleştirildikten hemen sonra, hem implant abutmenti hem de implant gövdesiyle temas halindedir. Buna rağmen, implant abutment arayüzündeki enflamasyonların neden olduğu implant çevresinde devam eden kemik rezorpsiyonu nedeniyle, PIE genellikle sadece implant gövdesiyle temas eder (Berglundh ve Lindhe, 1996; Cochran ve ark., 1997). Kemik seviyesinin değişen doğası nedeniyle, implant ameliyatından sonra diş etinin durumunu tahmin etmek zordur.

Şekil 2.2.: Periimplant dokular



Ayrıca, PIE çok benzer epitel yapılarına sahip olmasına rağmen, birleşim epitelinden çok daha düşük bir işlevsel sızdırmazlık kapasitesine sahiptir (Ikiru Atsuta ve ark., 2005; I. Atsuta ve ark., 2005; Buser ve ark., 1992; Ikeda ve ark., 2002).

Periodontal dokuları ağız boşluğundan ayıran birleşim epiteli iki katmandan oluşan (internal ve eksternal) bir bazal membran ile çevrilidir. Bu iki katman elektron mikroskopunda gösterdikleri yoğunluğa göre lamina lucida ve lamina densa olarak adlandırılmıştır. Birleşim epitelinin mineye bakan yüzeyinde lamina lucida birleşim epitelinin hücreleriyle birleşir ve bu birleşme hemidesmozomlar tarafından güçlendirilir. Lamina densa ise direkt olarak mine ile bağlantılıdır (Listgarten, 1975; Stern, 1981). Bazal membran, epitel dokular ve bağ dokusu arasında bir arayüz oluşturur (Timpl, 1993;

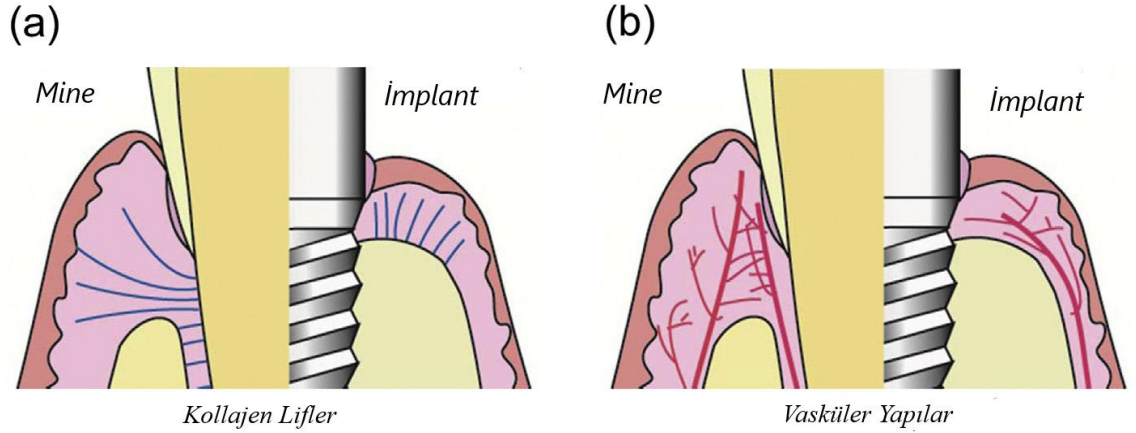
Timpl ve Brown, 1994). Bazal membran, tip IV kollajen, fibronektin ve laminin gibi yapısal proteinlerden oluşur (Martin ve Timpl, 1987). Diş eti birleşim epitelı diğer epitel dokulardan biraz farklıdır çünkü, lamina lucida, lamina densa ve lamina fibroreticularisi (sublamina densa) içeren bir eksternal bazal lamina'ya sahiptir. Lamina lucida, hemidesmozomlarla güçlendirilmiş birleşim epitelinin bazal hücrelerine bağlanırken; lamina densa, lamina fibroreticularis'e bağlanır (Gräber ve ark., 1999).

Gould ve arkadaşları birleşim epitelı hücrelerinin internal bazal lamina ve hemidesmozomlar sayesinde dişlerle yaptığı ataçmana benzer bir şekilde, titanyum implantlar ile PIE hücrelerinin bağlanma gösterdiğini bildirmiştir (Gould ve ark., 1984). Donley ve Gillette, epitel hücreleri ile doğal dişler arasında görülen hemidesmozomal bağlantının, implant yüzeyine yakın epitel hücreleri tarafından üretildiğini öne sürmüştür ve bu bağlantılar ışık ve elektron mikroskopunda gösterilerek kanıtlanmıştır (Atsuta ve ark., 2013; Donley ve Gillette, 1991; Ikeda ve ark., 2002). Ericsson ve Lindhe, PIE tarafından sunulan sondalama direncinin doğal dişlerin çevresindeki diş etinden daha zayıf olduğunu ve PIE-implant bağlantısının birleşim epitelı-mine bağlantısından çok daha zayıf olduğunu göstermiştir (Ericsson ve Lindhe, 1993).

Doğal dişlerde, bağ dokusu ataçmanı birleşim epitelinin apikalinde yer alır. Tip III kollajen liflerin yoğun olarak bulunduğu özel lif ağlarıyla PDL ve sementum'a bağlanır ve bu sayede bakteri istilasına karşı periodontal dokuları korur. Dental implantlar çevresindeki bağ dokusunda ise daha çok kollajenazlara karşı dirençli tip V kollajenleri içermektedir. İmplantlarda, PDL ve sementum bulunmadığından dolayı epitelin implanta ataçman şekli ve lif oryantasyonu doğal dişlerden farklıdır (Buser ve Bragger, 1989). Kısacası, doğal dişlerin etrafındaki bağ dokusundaki lif oryantasyonu kök yüzeyine dik olsa da, dental implantların etrafındaki lif oryantasyonu implant yüzeyine paralel uzanır

(Şekil 2.3a.) (Atsuta ve ark., 2016; Berglundh ve ark., 1991). İmplantların çevresindeki bu paralel lif oryantasyonu, bakteriyel etkenlere karşı zayıf bir direnç gösterir. Hem implantların hem de dişlerin etrafındaki bağ dokusunun rolü sadece oral bakterilere karşı korunmak için değil, aynı zamanda kan damarlarından besinlerin sağlanması için gereklidir. Periodontal dokular; PDL, periosteum ve bağ dokusundan geniş kan akışına sahipken, periimplant yumuşak dokulara kan akışı esas olarak bağ dokusundan gelmektedir (Şekil 2.3b.) (Atsuta ve ark., 2016; Moon ve ark., 1999). Dişlerde, kök sementumuna bitişik zengin vaskülarize bağ dokusuna rağmen, bu bölgeye karşılık gelen periimplant dokuların vasküler tedarikten neredeyse tamamen yoksun olduğu bulunmuştur (Berglundh ve ark., 1994). Bu iltihapsız skar dokusunun dental implantları çevreleyen dokuların savunma sistemini bozduğu ve periimplant mukozal dokuları bakteriyel etkenlere karşı daha duyarlı hale getirebileceği düşünülmektedir (Berglundh ve ark., 1994; Buser ve ark., 1992).

Şekil 2.3.: İmplant ve dişlerdeki kollajen liflerin ve vasküler yapıların dağılımı



Atsuta ve ark., 2016'dan alınarak türkçeleştirilmiştir.

Kemik seviyeli bir implantı çevreleyen PDL'nin bulunmaması önemli klinik sonuçlara neden olur. Bu, implantlar ve destekleyici kemik arasında esnek bir bağlantının olmadığı anlamına gelir. İmplantlar, erken oklüzal temasın varlığını telafi etmek için hareket edemezler. Bu nedenle herhangi bir oklüzal uyumsuzluk, restorasyon-implant bağlantısına ve kemik-implant arayüzüne yansacaktır. Doğal dişlerde PDL'nin sağladığı propriyosepsiyon hissi dental implantlarda yoktur (Bonte ve Van Steenberghe, 1991; Jacobs ve Van Steenberghe, 1994).

Dental implantlar etrafında PDL'nin olmaması ve implantların hareket edememesinden dolayı, gelişme çağındaki bireylerde dental implant kullanımı kontrendikedir. İmplantlar, yapmadığı halde doğal dişler büyüme sırasında erüpsiyona ve göç etmeye devam eder. Büyümenin tamamlanmasından önce bireylere yerleştirilen implantlar oklüzal uyumsuzluklara neden olabilir (Op Heij ve ark., 2003).

Periodontal sondalama, klinik ataçman seviyesini, cep derinliğini ve yapışık diş eti genişliğini ölçmek için kullanılan temel tanı araçlarından biridir. Sondalama derinliği,

diş eti kenarı ile sonda ucunun cebe nüfuz etme derinliği arasındaki mesafedir (Hermann ve ark., 2007; Periodontology, 2001). Sondalama derinliğinin artması ve periodontal ataçman kaybı periodontal hastalıkların göstergesidir (Chow ve Wang, 2010). Periimplant dokuların sondalanması ile dokudaki hastalığın belirtisi olarak kanama, süpürasyon ve eksüdasyon görülebilir. Periimplant dokular ile periodonsiyumdaki sondalama derinliğini karşılaştırmak için yapılan çalışmalarda, 0.5 N'luk kuvvetle yapılan sondalama sonucunda, periodontal sond'un periimplant dokularda ortalama olarak 0.7 mm daha derin dokulara nüfuz ettiği gösterilmiştir (Armitage ve ark., 1977).

Periimplant dokuların sağlığının tespiti ve hastalığın ilerlemesinin izlenmesi için tanı kriterleri periodontal hastalıklara benzer. Diş eti dokuları mikrobiyal enfeksiyonlara karşı birincil savunma mekanizmasını oluşturur. PIE'nin ve birleşim epitelinin cep epiteline dönüşmesi, periodontal hastalıkların ve periimplant hastalıkların ilk aşaması olarak bilinmektedir. Diş eti hastalığının değerlendirilmesi için kullanılan tüm klinik indeksler, renk değişikliği, şişme, kalınlık ve sondalamada kanama periimplant hastalıkların değerlendirilmesi içinde geçerlidir. Diş etinde bulunan DOS, periimplant dokularda periimplant sulkuler sıvısı (PISS) olarak adlandırılır. DOS, özellikle polimorfonükleer lökositler (PMNL) bakımından zengindir ve bakteriyel veya konakçı kaynaklı bir kemotaktik gradyan tarafından uyarılabilir. Diş etinde meydana gelen enflamatuvar durumlarda DOS, enflamatuvar bir eksudaya dönüşür. PISS, gingival pleksusun damarlarından kaynaklanan enflamatuvar bir eksüdadır ve DOS'a benzer. Konak hücreler tarafından üretilmiş enzimleri, enzimlerin inhibitörlerini ve konak yanıtını düzenleyen ürünleri içerir (Dhir ve ark., 2013).

2.4. PERİİMLANT DOKU HASTALIKLARI

Dental implantlar uygulanmaya başlandığından itibaren, çoğu klinisyen öncelikle implant stabilitesine gelecekteki başarı için en büyük belirleyici faktör olarak odaklanmıştır (Albrektsson ve ark., 1981; Becker ve Goldstein, 2008; De Bruyn ve ark., 2013; Degasperi ve ark., 2014). Osseointegrasyon, implant stabilitesini korumada en önemli faktör olarak kabul edilirken, implantların çevresindeki yumuşak doku iyileşmesi ve bakımının rolü ihmal edilmiştir (Albrektsson ve ark., 2012; Albrektsson ve ark., 2014; Schwarz ve ark., 2012). Son zamanlarda yapılan çalışmalar ise osseointegre implantların uzun süreli sağ kalımının ayrıca periimplant mukozadaki iyileşmeye ve stabiliteye bağlı olduğunu göstermiştir (Jan Lindhe ve ark., 2008). İmplantların koronal kısmındaki yumuşak doku, bakteri istilası ve gelecekteki iltihaplanma gelişimini önleyen koruyucu bir sızdırmazlık sağlar (Berghlund ve ark., 1991; Kawahara ve ark., 1998). Bu nedenle yumuşak doku sağlığı, implantların stabil osseointegrasyonu ve uzun süreli hayatta kalması için gereklidir (Koka, 1998; Koutouzis ve ark., 2016; Romanos ve ark., 2016). Bu nedenle oral hijyeni yetersiz bireylerde periimplant mukozada enflamatuvar durumlar gelişir (Pontoriero ve ark., 1994). Periimplant mukozadaki bu enflamatuvar süreç kızarıklık ve şişlik ile başlar. Sondalamada kanama başladığında ise bu enflamatuvar durum perimplant mukozitis olarak adlandırılır. Bu durum tedavi edilmezse, implantların çevresindeki alveol kemiğin kaybı da dâhil olmak üzere implantı çevreleyen dokuların ilerleyici ve geri dönüşümsüz yıkımına ve sonuçta implant başarısızlığına yol açabilir. Enflamasyonun daha da ilerlemiş bu boyutu ise periimplantitis olarak adlandırılır (Heitz-Mayfield, 2008a).

2.4.1. Periimplant Mukozitis

Periimplant mukozitis, dental implantı destekleyen periimplant kemikte bir kayıp olmadan, periimplant mukozada meydana gelen enflamatuvar değişiklikler olarak tanımlanmıştır (Heitz-Mayfield ve Salvi, 2018). Literatürde periimplant mukozitisin teşhisi için yapılmış çalışmalarda ortak değerlendirilen parametrenin, sondalamada kanama olduğu gözlenmektedir. (Tablo 2.2.) (Figüero ve ark., 2014; Porras ve ark., 2002). Klinik olarak periimplant mukozada eritem, şişlik, süpürasyon ve sondalamada kanama mevcuttur (Albrektsson, 1985; J. Lindhe ve ark., 2008; Zitzmann ve Berglundh, 2008). Biyofilm birikimi ana etyolojik faktör olarak kabul edilmektedir (Berglundh ve ark., 1992; Ericsson ve ark., 1992; Rakic ve ark., 2016). Osseointegre dental implantların sağlıklı periimplant mukozasında, bakteriyel biyofilmlerin birikmesini takiben periimplant mukozitis gelişir. İnsanlarda titanyum dental implantların etrafında deneysel bakteriyel biyofilm birikimi ile enflamatuvar yanıt (deneysel periimplant mukozitis) arasındaki neden-sonuç ilişkisi gösterilmiştir (Pontoriero ve ark., 1994; Salvi ve ark., 2012; Zitzmann ve ark., 2001). Bakteriyel etkenlere ek olarak, sigara kullanımı, keratinize dokunun boyutu ve sistemik hastalıklar periimplant mukozitis için olası risk göstergeleri olarak tartışılan faktörler arasındadır (Lin ve ark., 2013; Renvert ve Polyzois, 2015). Hasta düzeyinde periimplant mukozitis prevalansının % 40'ı aştığı bildirilmektedir (Derks ve Tomasi, 2015). Periimplant mukozitis lezyonlarında enflamasyon ve şişliğin bir sonucu olarak sondalanabilir cep derinliği artabilir, ancak herhangi bir kemik kaybı meydana gelmez. Doğal dişlerle karşılaştırıldığında periodontal sond, periimplant mukozitis varlığında implantların etrafına daha kolay nüfuz edebilir (Klinge, 1991; Schou ve ark., 2002). Genel olarak, dental implantların etrafındaki sondalama derinlikleri herhangi bir patoloji olmamasına rağmen 4 mm'yi aşabilir. Bu nedenle, periimplant

sağlığı ile hastalık arasındaki farkı anlamak için, protez restorasyonu sırasında periimplant mukozal cep ve radyografik değerlendirme de dâhil olmak üzere temel bir değerlendirme yapılması önerilir (Coli ve ark., 2017; De Bruyn ve ark., 2013). Enflamasyon devam ederse, duyarlı bireylerde periimplant destek kemik etkilenebilir ve periimplant kemik kaybı meydana gelebilir. Daha önce periimplant mukozitis teşhisi konan hastalarda düzenli destekleyici tedavi eksikliğinin periimplant mukozitisin periimplantitise ilerlemesi ile ilişkili olabileceğine dair artan kanıtlar vardır (Costa ve ark., 2012).



Tablo 2.2.: Periimplant mukozitisin teşhisi için yapılmış çalışmalar

Referans	Mukozitis Tanımı
Heitz-Mayfield ve ark. (Heitz-Mayfield ve ark., 2011)	Sondalamada kanama ve kemik kaybının olmaması
Thone-Muhling ve ark. (Thöne-Mühling ve ark., 2010)	Sondalamada kanama ve/veya gingival indeks ≥ 1 mm en az bir bölgede ve 2 yıl içerisinde herhangi bir kemik kaybının olmaması
Ramberg ve ark. (Ramberg ve ark., 2009)	Sondalamada kanama
Porras ve ark. (Porras ve ark., 2002)	Plak, sondalama derinliği ≤ 5 mm ve modifiye kanama indeksinde enflamasyonun kanıtı
Felo ve ark. (Felo ve ark., 1997)	Sondalamada kanama, modifiye gingival indeks >1.5 mm, modifiye plak indeksi >1.5 mm ve sondalama derinliği ≤ 3 mm
Ciancio ve ark. (Ciancio ve ark., 1995)	Sondalamada kanama, modifiye gingival indeks >1.5 mm ve modifiye plak indeksi >1.7 mm

Figuro ve ark., 2014'ten alınarak türkçeleştirilmiştir.

Biyofilm kaynaklı periimplant mukozitise karşı konak duyarlılığını etkileyebilecek faktörler araştırılmıştır. Sigara içimi üç çalışmada periimplant mukozitis için bir risk göstergesi olarak tanımlanmıştır. Periimplant mukozitis için bir risk göstergesi olarak radyasyon tedavisi için de kanıtlar vardır (Karch ve ark., 2009; Rinke ve ark., 2011; Roos-Jans  ker ve ark., 2006). Kontrolsüz diyabet hastalarındaki (HbA1c seviyeleri >10.1) implantlarda sondalamada artan kanamanın periimplant mukozitis ile ilgili olduğu gösterilmiştir (G  mez-Moreno ve ark., 2015). Kardiyovasküler hastalık öyküsü bulunan hastalarda artmış periimplantitis riski olsa da, periimplant mukozitis ile bir ilişki olduğuna dair kanıt yoktur (Renvert ve ark., 2014).

2.4.2. Periimplantitis

Periimplant mukozitisin aksine periimplantitis, implantı   vreleyen sert ve yumuşak dokuların ilerleyici ve geri d  n    ms  z bir hastalığıdır. Kemik rezorpsiyonu, azalmış osseointegrasyon, artan cep oluşumu ve pürülan eksüda eşlik eder. Klinik olarak, yumuşak doku iltihabı sondalama (sondalamada kanama) ile tespit edilirken, radyografilerde progresif kemik kaybı tespit edilir (Meyerov ve ark., 2012; Wilson, 2013; Zitzmann ve ark., 2006). Schwarz ve ark. periimplantitis nedeniyle meydana gelmiş kemik defektlerini konfigürasyonuna göre, sınıf 1 kemik içi defekt ve sınıf 2 supraalveolar defekt olarak iki kısıma ayırmışlardır (Schwarz ve ark., 2008). Spiekermann ise, periimplantitisdeki kemik rezorpsiyonuna göre 4 sınıfa ayırmıştır: Horizontal (sınıf I), anahtar   killi (sınıf II), huni ve boşluk benzeri (sınıf III a, b) ve horizontal-sirküler (sınıf IV). Ancak, bu sınıflamalardan ilerleme ve prognoz kriterlerini sonuçlandırmak mümkün değildir (Spiekermann, 1994). Periimplantitis prevalansı ile ilgili yapılmış çalışmalara göre, periodontitis öyküsü olan hastalarda periimplantitis

gelişme insidansının, periodontal enflamasyon öyküsü olmayan hastalardan neredeyse altı kat daha fazla olduğu belirtilmiştir (Zitzmann ve ark., 2006). Başka bir çalışmada, on yıllık takip sonucunda periimplantitis gelişme oranının % 10 ila % 50 arasında olduğu bildirilmiştir (Claffey ve ark., 2008). Periodontoloji Çalıştayının 6. Konsensüs raporunda, Lindhe ve Meyle'nin çalışmasına dayanarak periimplantitis insidansının % 28 ile % 58 arasında olduğu bildirilmiştir (J. Lindhe ve ark., 2008). Aşağıdaki faktörler veya durumlar periimplantitis gelişimi için risk faktörleri olarak bildirilmiştir (Charyeva ve ark., 2012; Ferreira ve ark., 2006; Heitz-Mayfield, 2008b; Schwarz ve Becker, 2008; Schwarz ve ark., 2008).

- IL-1 genotip polimorfizminin varlığı ve sigara içmek
- Periodontitis öyküsü
- Ağız hijyeni yetersizliği
- Sistemik hastalıklar (Kontrolsüz diabetes mellitus, kardiovasküler rahatsızlıklar, immünsüpresan kullanımı)
- Yumuşak doku yetersizlikleri (Keratinize diş eti azlığı)
- Bir veya daha fazla implant kaybı

Periodontitisin aksine periimplantitis lezyonlarında, tipik periodontopatik mikrobiyotanın parçası olmayan bakteriler baskındır. Özellikle, *Staphylococcus aureus*'un periimplantitis gelişimi için baskın bir rol oynadığı görülmektedir. Salvi ve ark. yaptığı çalışmada, *staphylococcus aureus*'un titanyum yüzeylere yüksek afinite gösterdiğini kanıtlamıştır (Subramani ve ark., 2009).

2.4.3. Periimplant Mukozitis ve Periimplantitisin Patogenezi ve Enflamatuvar Mekanizmalar

Doğal dişlerde olduğu gibi implant yüzeyinde biyofilm gelişimi, çevresindeki periimplant dokuların enflamatuvar tepkisini başlatıcı bir faktördür. Periimplant mukozitis, epitel ile sınırlı enflamasyon, bağ dokusu kaybı, mikrovasküler değişiklikler ve lökositlerin artan infiltrasyonu ile karakterizedir (Sanz ve ark., 1990; Zitzmann ve ark., 2004). Periimplant mukozitiste meydana gelen enflamatuvar olaylar dizisi, gingivitise benzer ancak potansiyel olarak gingivitisten daha büyüktür (Berglundh ve ark., 1991; Berglundh ve ark., 1992). Enflamasyonun daha da ilerleyip kemik dokusuna ulaştığı durumlarda periimplantitise geçiş olur. Bu durumda, kemik rezorpsiyonu için osteoklastlar aktif hale gelir (Carcuac ve ark., 2013).

Periimplantitis lezyonunun olduğu hastalıklı dokularda proenflamatuvar sitokinler, interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) dâhil olmak üzere çeşitli enflamasyon mediatörlerinin sağlıklı veya periimplant mukozitisli dokulara göre yüksek ekspresyon sergilediği gösterilmiştir (Kontinen ve ark., 2006; Venza ve ark., 2010). Doku biyopsileri enflamatuvar olayların gerçek bir görünümünü verebilse de, toplama işleminin invazivliği bu materyali düzenli olarak kullanmayı neredeyse imkânsız hale getirmektedir. Bunun aksine, periimplant dokularındaki PISS'daki enflamatuvar eksüdanın toplanma işlemi çok daha basit ve invaziv değildir.

Periimplantitis, konağın dental plaktan gelen bakteriyel antijenlere karşı gösterdiği düzensiz bir enflamatuvar yanıtın sonucudur. Periimplantitisin temeli, bakteri ürünleri, konakçı hücreler ve lokal olarak üretilen biyolojik aktif faktörler arasında kurulan bir etkileşim kompleksinden oluşur. Yıkıcı süreçlerin derecesi ve sonucu, yerel

düzeyde enflamatuvar yanıtın doğası ile belirlenir. Uyarıcı ve inhibitör sitokinler arasındaki denge, reseptörlerin ve sinyal kaskadlarının ekspresyonunun düzenlenmesi ile birlikte, periimplant dokularının yok olma seviyesini belirler. Yani, onları üreten hücrelerin lokal aktivitesini yansıtan bu mediatörlerin yerel dengesi, doku yıkım seviyesini belirler. Yerel sitokin üretimi, sadece spesifik mikroorganizmaların dış eti dokusu ile etkileşmesine değil, aynı zamanda konak hücre yanıtına da bağlıdır. Bu karmaşık olaylarda, en erken olaylardan biri IL-8 salgılanmasına neden olan dış eti makrofajları ile interlökin-1 beta (IL-1 β) üretimindeki artıştır. Bu iki sitokin, bakteriyel lipopolisakaritlerin etkisiyle lokal olarak aktive edilen PMNL ve monositlerin dış eti kan damarlarından seçici göçünü yönlendirir. Aktive edilmiş hücreler, IL-1 β , IL-6 ve IL-8 gibi sitokinleri üretir. IL-1 β ve IL-6'nın sentezlenmesiyle osteoklastlar aktive olur aynı zamanda kollajen sentezinde azalma ve fibroblastların indüksiyonu ile önemli bir doku hasarı meydana gelir (Panagakos ve ark., 1996; Petković-Ćurčin ve ark., 2011).

Sağlıklı implant dokularında, PISS difüzyonu oldukça pasif ve yavaştır. Bununla birlikte, biyofilmin neden olduğu iltihaplanma sonrasında bağ dokusundaki damar geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak, PISS'ın hacmi önemli ölçüde artar. Deneysel olarak indüklenen periimplant mukozitis çalışmaları, 3 haftalık plak birikimi protokolünün sonunda hem PISS hacminin hem de protein içeriğinin arttığını göstermiştir (Salvi ve ark., 2012). PISS bileşimi, iltihaplanma sırasında histopatolojik değişikliklerle birlikte modifiye edildiğinden, moleküler analizi klinik olarak tespit edilemeyen değişikliklerin erken saptanmasını destekleyebilir. Sağlıklı kontrollere kıyasla periimplantitisten etkilenen bölgelerden toplanan PISS'da daha yüksek TNF-a, interlökin-17 (IL-17) ve IL-1 β konsantrasyonlarının bulunduğu doğrulanırken, antienflamatuvar sitokin interlökin-10'un (IL-10) ise konsantrasyonunun azaldığı gösterilmiştir (Casado ve

ark., 2013; Severino ve ark., 2011; Vieira ve ark., 2013). PISS analizinde multipleks sitokin dizilerinin uygulandığı bir çalışmada, çoklu enflamatuvar sitokinler ve kemokinler daha geniş bir şekilde eşzamanlı olarak taranmıştır. Sonuçlara göre, granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-2 (IL-2), interlökin-4 (IL-4), interlökin-5 (IL-5), IL-6, interlökin-7 (IL-7), IL-8, IL-10, interlökin-12 (IL-12), interferon (IFN) ve TNF- α dâhil olmak üzere hem periimplant sağlıkta hem de hastalıkta 12 belirteç değerlendirilmiştir. Önceki bulgulara paralel olarak IL-6, IL-8, IL-10 açısından fark bulunmamakla birlikte, periimplantitis bölgelerinde periimplant mukozitis bölgelerine göre IL-1 β düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek olarak gözlenmiştir (Fonseca ve ark., 2014). Daha ileri çalışmalar periimplantitis tedavisinin IL-1 β ve TNF- α 'nın PISS düzeylerini düşürdüğünü göstermiştir (Bassetti ve ark., 2014; De Mendonça ve ark., 2009). Çalışmalar ayrıca IL-1 genindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin, özellikle sigara içimi ile birleştirildiğinde periimplantitis gelişimi için daha yüksek bir risk taşıyabildiğini göstermiştir (Andreiotelli ve ark., 2008; Bormann ve ark., 2010).

MMP'ler, periodontitis de dâhil olmak üzere çeşitli hastalık süreçlerinde kollajen yıkımında güçlü bir şekilde belgelenmiş rolü olan proteolitik enzimlerdir (Sorsa ve ark., 2006). Yapılan çalışmalarda, periimplantitis alanlarındaki PISS'daki MMP düzeylerinin sağlıklı bölgelere göre arttığı ve enzimatik aktivitelerinin hastalık şiddeti ile arttığı gösterilmiştir (Kivelä-Rajamäki ve ark., 2003; Özçakır-Tomruk ve ark., 2012).

Kemik rezorpsiyonu periimplantitisin ayırt edici özelliği olduğundan, osteoklastogenez ve osteogenezle ilişkili belirteçlerin düzenlenmesi de PISS'da incelenmiştir. Periodontitisli bölgelerden elde edilen DOS bulgularına benzer şekilde, nükleer faktör kappa-B ligandı (RANKL) - osteoprotegerin (OPG) sisteminin reseptör aktivatörünün periimplantitis oluşumu ve ciddiyeti ile ilişkisini gösteren kanıtlar

artmaktadır (Arıkan ve ark., 2008; Rakic ve ark., 2013; Sarlati ve ark., 2010). Osteokalsin gibi diğer kemik metabolizması belirteçlerine bakan birkaç çalışmada, bunların periimplant mukozitis lezyonlarındaki PISS'da sağlıklı bölgelere göre daha yüksek olduğunu, ancak periimplantitis ile periimplant mukozitis veya sağlık arasında fark olmadığını gözlemlemiştir. Bu nedenle, PISS'daki yüksek osteokalsin seviyeleri şiddetli kemik rezorbsiyonlarından ziyade implantların çevresindeki lokal kemik döngüsünü arttırmaktadır (Murata ve ark., 2002).

Biyopsi materyalleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, periimplant mukozitis ile karşılaştırıldığında, periimplantitis bölgelerindeki lezyonlarda daha fazla nötrofil granülositi ve B-lenfosit olduğu gözlenmiştir (Gualini ve Berglundh, 2003). Periodontitis lezyonlarına benzer şekilde, periimplantitis bölgelerindeki lezyonlara da plazma hücreleri ve lenfositler hâkimdir, ancak daha büyük oranlarda PMNL'ler ve makrofajlar ile karakterize edilir (Berglundh ve ark., 2004; Berglundh ve ark., 2011). Periimplantitis bölgelerinden elde edilen yumuşak doku biyopsilerinin immünohistokimyasal analizini kullanan bir başka çalışmada, interlökin-1 alfa'nın (IL-1 α) baskın bir osteoklast aktive edici sitokin olduğu gösterilmiştir (Konttinen ve ark., 2006).

Enflamatuvar bir infiltratın, periimplantitisli bölgelerde periimplant yumuşak dokusunun geniş bir alanını kapladığı gözlenmiştir. Periimplantitisli altı hastadan alınan yumuşak doku biyopsilerini analiz eden bir çalışmada, bağ dokusu kısmının yaklaşık % 65'inin enflamatuvar bir lezyon tarafından işgal edildiği bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca "biyopsilerin hem epitelde hem de bağ dokusunda belirgin enflamatuvar değişiklikler gösterdiğini" ve plazma hücrelerinin ve diğer mononükleer hücrelerin enflamatuvar hücreler arasında baskın olduğunu bildirmişlerdir. Esposito ve ark. başarısız implantları çevreleyen yumuşak dokuların immünohistokimyasal özellikleri üzerine

yapılan bir çalışmada, numunelerin marjinal kısmının yoğun bir enflamatuvar ve immünolojik yanıtla karakterize edildiğini bildirmiştir (Esposito ve ark., 1997; Sanz ve ark., 1991).

2.5. PERİODONTAL HASTALIKLAR VE PERİİMLANT DESTEK DOKU HASTALIKLARININ İYİLEŞME MEKANİZMASI

Yumuşak doku iyileşmesi ile ilgili çoğu bilgi, kutanöz veya deri yara iyileşmesi olarak da adlandırılan epidermal çalışmalardan gelir. Oral mukozadaki yumuşak doku iyileşmesinin hücresel yönleri hakkında çok daha az şey bilinmektedir. Bu nedenle, şu anda yara iyileşmesinin korunmuş bir süreci temsil ettiği varsayılırken, periodontal ve periimplant yumuşak doku onarımının hücresel süreçleri, kısmen cilt yaralarının iyileşmesine benzemektedir. Bununla birlikte, skar oluşumu ağız boşluğunda cilt yaralarından daha az meydana geldiğinden eleştiriye neden olabilmektedir (Wikesjö ve ark., 1991). Günümüzde, örneğin belirli bir hücre tipinin yara iyileşmesine katılımını anlamaya veya yara iyileşmesinin devam eden sürecinde belirli bir hücre tipini izlemeye izin veren karmaşık prekliniik modeller mevcuttur. Genomik ve proteomik gibi analitik metodolojideki yeni gelişmeler, karmaşık yara iyileşme sürecinin moleküler regülasyonunun daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır (Sculean ve ark., 2014). Memeli türünde yara iyileşmesi, dokunun orijinal formunun ve işlevinin yeniden tesis edilmediği onarım fenomenlerine yol açar. Hastalık tarafından zarar görmüş periodontal ve periimplant dokularda, yara iyileşmesinden sonra tam doku rejenerasyonu sağlanamaz. Bunun yerine, skarlaşmaya ve yetersiz doku oluşumuna yol açan onarıcı yanıtlar meydana gelir (Smith ve ark., 2019).

2.5.1. Epitelizasyon

Yara kenarlarındaki epitel hücreleri, cerrahi yaralanmadan sonraki birkaç saat içinde spesifik değişikliklere uğrar. Bazal ve suprabazal spinoz tabaka hücreleri, farklılaşmaya maruz kalır, amoeboid hareket potansiyeli kazanır ve fagositik yetenekler geliştirir. Bu hücreler arasında boşluklar, desmozomal ekler gevşetildikçe ortaya çıkar. Hücreler uzar ve iyi biçimlendirilmiş fibrin pıhtısı ile yüzey koagülü (kuru epidermal yaralarda kabukların karşılığı) arasındaki yollarını keserek pıhtı fibrin iskelesi boyunca göç etmeye başlar. Yara kenarının bu göç eden hücrelerine bitişik bazal ve suprabazal tabakaları, daha sonra normal hücrelerini büyük ölçüde aşan bir oranda mitozaya girmeye başlar ve bu da yavru hücrelere göç eden epitel hücrelerinin kaynağını yenilemelerini sağlar (Harrison, 1991; Melcher ve Bowen, 1969; Ruben, 1980; Sciubba ve ark., 1978). Göç eden hücreler, karşıt yara kenarından göç eden epitel hücreleri ile hücresel temas yapılanaya kadar, birkaç hücre kalınlığında olabilen tek katmanlı veya bir hücre tabakası olarak yaranın yüzeyinin merkezine doğru hareket eder (Melcher ve Bowen, 1969). Bu migrasyon sırasında tekli tabakaların veya uzatılmış epitelyal hücre tabakalarının hareketine akış denir. Göç eden hücrelerin yolları, fibrin substratının oryantasyonu tarafından yönlendirilir ve hareket yönü, yalnızca başka bir benzer hücre ile ilk temas yapıldığında değişir. Göç sadece hücre diğer taraflardaki epitelyal hücrelerle temas ettiğinde durur (temas inhibisyonu). Karşıt epitel hücrelerinin yara kenarlarından teması epitel sızdırmazlığını (epitel köprüsünü) oluşturur (Ordman ve Gillman, 1966). Epitelyal köprü kurulduktan sonra epitel hücreleri farklılaşır, hızlandırılmış bir oranda mitozaya uğrar ve kısa bir süre sonra tabakalı skuamöz epitelin kesin katmanlarını olgunlaşma süreci ile yeniden biçimlendirir (Krawczyk, 1971; Melcher ve Bowen, 1969; Sciubba ve ark., 1978). Tabakalaşma veya katmanlama ile artık etkili bir epitel bariyeri vardır ve altta

yatan bağ dokusu iyileşmesi ağız boşluğundaki mikroorganizmalardan etkilenmeden ilerleyebilir (Ordman ve Gillman, 1966; Ruben, 1980). Oral mikroorganizmaların girişini önlemeye ek olarak, epitel bariyeri diğer iki nedenden ötürü klinik öneme sahiptir. Onarımı etkileyecek olan bağ dokusu hücreleri için, besin kaynağı olan doku sıvılarının kaybını engeller. Böylece doku hidrasyonunu koruyarak iyileşmeyi büyük ölçüde artırır. İkinci olarakta epitelyal bariyer, skar dokusunu sıkı ve güçlü bir şekilde kalmasını sağlamaktadır (Gutmann ve Harrison, 1991; Ruben, 1980).

2.5.2. Bağ Doku İyileşmesi

Hemostaz

Hemostaz, yaralanmadan hemen sonra başlatılır, tipik olarak 3-6 saat sürer. Bir fibrin matrisine gömülü aktif trombositler, nötrofiller ve kırmızı kan hücrelerinin oluşturduğu kan pıhtısı lezyonu doldurur ve enflamatuvar hücrelerin alımını başlatır. Bu sürecin başlarında, çeşitli kemokinler, sitokinler, epidermal büyüme faktörü (EGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) ve fibroblast büyüme faktörü (bFGF) salgılanır. Hücrelerin bulunduğu bu kompleks yapı ve fibrin bakımından zengin matris, daha sonra granülasyon dokusu ile değiştirileceği için sıklıkla “geçici hücre dışı matris” olarak adlandırılır. Kan pıhtısı oluşumu ayrıca enflamatuvar hücrelerin defekt bölgesine alınması için başlangıç noktasıdır (Gurtner ve ark., 2008; Qu ve Chaikof, 2010).

Enflamasyon

Enflamatuvar faz hemostaz ile birlikte başlar ve 4-6 gün sürer (Witte ve Barbul, 1997). Bu fazın en önemli hücreleri, lezyon bölgesindeki patojenleri ortadan kaldırmayı amaçlayan nötrofiller ve makrofajlardır (Susin ve ark., 2015). Enflamatuvar fazda diş eti

fibroblast hücrelerinden, PDL hücrelerinden, keratinositlerden, makrofajlardan ve nötrofillerden TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve TGF- β gibi çeşitli sitokinler salgılanır (Hübner ve ark., 1996; Noh ve ark., 2013). Ayrıca kollajenazlar gibi enzimler, kollajen ve fibronektin parçaları gibi ekstrasellüler maktriks (ESM) bileşenlerini parçalamak için salgılanır. Geç enflamatuvar fazda, lenfositler yara ortamına sızar ve diş eti fibroblast proliferasyonu ile kollajen biyosentezini etkiler (Callaghan ve ark., 1996; Trindade ve ark., 2014). Enflamatuvar uyaranlardaki azalma, yara bölgesindeki nötrofiller ile makrofajları azaltır ve enflamatuvar makrofajlardan, yara iyileştirici makrofajlara geçişe yol açar. Bu süreç yenilenme için önemli bir rol oynamaktadır ve iyileşmenin proliferatif fazına geçişi düzenliyor gibi görünmektedir (Diegelmann, 2004; Fujishiro ve ark., 2008).

Granülasyon ve Kontraksiyon

Proliferatif faz olarak da adlandırılan bu faz, genellikle 4-14 gün sürer ve granülasyon dokusunun oluşumu ile karakterizedir (Brancato ve Albina, 2011; Witte ve Barbul, 1997). Granülasyon dokusu, fibroblastlar açısından zengin, oldukça vaskülarize bir dokudur. Bu aşamada endotel hücreleri, diş eti fibroblastları ve keratinositler toplanır. Miyofibroblastların varlığı, yara boyutunda bir azalmaya neden olan fiziksel kasılma ile ilişkilidir (Velnar ve ark., 2009). Makrofajlar, keratinositler ve diş eti fibroblastları tarafından salgılanan TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve TGF- β keratinositlerin, endotel hücrelerinin ve diş eti fibroblastlarının aktivasyonunu, proliferasyonunu, migrasyonunu ve farklılaşmasını indükler (Carter, 2003; Werner ve ark., 2007). Keratinositlerin göçünü, ESM'nin keratinositler tarafından salgılanan MMP'ler tarafından bozulması takip eder (Hackam ve Ford, 2002). Bu farklı mediatörler ESM biyosentezini, epitelizasyonunu ve anjiyogenezini uyarır ve modüle eder (Robson, 2003). Çoğalma oranı hücre tipleri

arasında değişkendir. Epitel hücreleri, birçok durumda uzun birleşim epitelinin gelişimini açıklayan en yüksek proliferatif oranı gösterir (Susin ve ark., 2015).

Yara Matürasyonu

Remodelasyon olarak da adlandırılan bu faz, yara iyileşmesinin en uzun ve son aşaması olarak kabul edilir. Yeni bir epitelin geliştirilmesi, granülasyon dokusunun ortadan kaldırılması ve ESM'nin yeniden şekillenmesi ile karakterize edilir (Velnar ve ark., 2009). Bu faz sonucunda yara dokusu tamamen kapanır ve fibroz doku oluşumu nedeniyle skarlara yol açabilir (Brancato ve Albina, 2011). Diş eti fibroblastları ve PDL, farklı kollajen türlerinin (tip I, III, V, VI, XII ve XIV), elastinin, proteoglikanların, MMP'lerin ve bunların inhibitörlerinin sentezi yoluyla ESM'nin yeniden düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Bumann ve ark., 1997; Sarrazy ve ark., 2011). Remodelasyon aşaması, geçici yara matriksinin kontraksiyonuna yol açan diş eti fibroblast proliferasyonunu, glikozaminoglikan ve fibronektin gibi matriks bileşenlerinin sentezini uyaran makrofajlar tarafından salınan PDGF ve TGF- β gibi birkaç sitokin tarafından düzenlenir (Fine ve Goldstein, 1987; Lijnen ve Petrov, 2002). Ayrıca, osteoklastik kemik rezorpsiyonu sırasında salınan PDGF ve TGF- β , kemik yeniden modellenmesi ve farklılaşması sırasında osteoblast göçünü uyarırken osteoblast migrasyonunda önemli bir düzenleyici olabilir (Lind ve ark., 1995). Oral ve kutanöz yara iyileşmesinin genel akışı benzer olsa bile, oral yara iyileşmesi, hızlı iyileşme oranı ve kutanöz yara iyileşmesine kıyasla daha az skar formasyonu ile karakterizedir (Wong ve ark., 2009). Bu fark, enflamatuvar hücrelerin (nötrofiller, makrofajlar, T ve B hücreleri) azalmış infiltrasyonu ve IL-1, IL-6, TNF- α , TGF- β ve kemokinler gibi enflamatuvar sitokinlerin daha düşük salgılanmasıyla açıklanabilir (Schrementi ve ark., 2008; Szpaderska ve ark., 2003). Epitelyal iyileşme periodontal cerrahi tedaviyi takip eden 7 ila

14 gün arasında sağlanır. Bununla birlikte, bölgedeki enfeksiyon ve iltihaplanma gibi çeşitli faktörlerin kalıcılığı iyileşme oranını azaltır ve daha fazla skar dokusuna neden olabilir (Martin ve Leibovich, 2005).

2.5.3. İyileşme Sürecindeki Regülatör Mekanizmalar

Sitokinlerin Rolü

TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve TGF- β , periodontal yara iyileşmesinde anahtar moleküllerdir ve çok çeşitli hücre tiplerinin (fibroblastlar, epitel hücreleri, osteoblastlar, makrofajlar) göçünü, çoğalmasını ve farklılaşmasını etkiler. Ayrıca ekspresyon seviyelerine göre periodontal doku rejenerasyonunu etkileyebilirler (Gulati ve ark., 2014). Örneğin, IL-1 β ve TNF- α adezyon molekülleri ve kemokinlerin ekspresyonunu, proenflamatuvar mediatörlerin prostoglandin-E2 (PGE-2) sekresyonunu, MMP'lerin ekspresyonunu, osteoklast oluşumunu ve matriks üreten hücrelerin apoptozunu artırır (Thomas ve Puleo, 2011). Periodondal doku hasarından hemen sonra, onarım kaskadını başlatmak için proenflamatuvar mediatörler gereklidir. Birçok çalışma, bu gerekli mediatörlerin yokluğunda, yara iyileşmesinin (epitelizasyon, kemik oluşumu) bozulmuş veya gecikmiş olabileceğini göstermiştir (Graves ve ark., 2011; Heo ve ark., 2011). TNF- α ve IL-1, erken yara dokularında nispeten yüksek konsantrasyonlarda üretilir. Mitojenik ve kemotaktik özelliklere sahiptirler ve osteoklastların, T ve B hücrelerinin aktivasyonunu uyarırlar (Zhang ve ark., 2002). İndüklenmiş periodontal yara modellerinde, enflamasyonun erken evresinde TNF- α ve IL-1'in blokajı yara iyileşmesini kolaylaştırırken, uzun süreli blokajın olumsuz etkileri olabilir. Bu sonuçlar, primatlarda yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir. Sonuç olarak, bu gözlemler TNF- α ve IL-1'in iltihapların giderilmesinde ve osteoklastogenez regülasyonunda önemli bir rol oynadığını

vurgulamaktadır (Osta ve ark., 2014). Ayrıca TGF- β , aşırı ESM birikimi, çeşitli fibrotik ve patolojik durumlarla ilişkili miyofibroblastların farklılaşmasından sorumlu ana mediatördür (Anitua ve ark., 2012; Morand ve ark., 2017).

Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta 1 (TGF- β 1) pleiotropik fonksiyonlara sahiptir; fibroblastlar tarafından artan kollajen sentezini ve bunların diş eti hücrelerinde miyofibroblastlara dönüşümünü düzenler (Hong ve ark., 1999). TGF- β 1 eksik farelerde yapılan çalışmada, erken cilt yara iyileşmesi neredeyse normal olarak ilerlemiştir (Brown ve ark., 1995).

Periodontitis, periodontal ataçman kaybıyla sonuçlanan mikrobiyal ilişkili, konakçı aracılı iltihaplanma ile karakterizedir. Dişlerin mine-sement sınırından çevresel olarak periodontal sond yardımıyla muayene edilerek klinik ataçman kaybının değerlendirilmesiyle tespit edilir (Tonetti ve ark., 2018). Periodontitiste, diş eti dokularında oksijen temini ve tüketimi, mikrosirkülasyonun bozulması ve lökosit infiltrasyonunun artması nedeniyle önemli ölçüde dengesizleşebilir (Karhausen ve ark., 2005). Ayrıca, anaerobik bakteriyel biyofilmin büyümesi periodontal dokuların çevresindeki oksijen basıncını daha da azaltabilir. Periodontitis patogeneğinde anahtar rol oynayan proenflamatuvar sitokin, TGF- β 1, hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa (HIF-1 α) yolunu aktive eden hipoksik olmayan bir uyarıcıdır (Gorlach ve ark., 2001; Wahl ve ark., 1993). Periodontitiste HIF-1 α , diş eti fibroblastlarında ve infiltre edici enflamatuvar hücrelerde yüksek oranda eksprese edilir. Periodontal yıkımı kolaylaştıran MMP'ler gibi enflamatuvar faktörlerin transkripsiyonunu düzenler (Birkedal-Hansen, 1993; Ng ve ark., 2011a). TGF- β 1 aktivasyonunu takiben reseptörlerden çekirdeğe sinyalizasyon, Smadlar adı verilen sitoplazmik mediatörlerin fosforilasyonu yoluyla gerçekleşir. Smad 2 ve Smad 3 gibi reseptörle ilişkili Smadlar, aktif TGF- β 1 reseptör tip I ile doğrudan etkileşime girer

ve fosforile edilir (Miyazono, 2000). Bu etkileşimler liganda özgüdür ve fosforile olduğunda Smad 2 ve Smad 3, Smad 4 ile heteromerik kompleksler oluşturur (Nakao ve ark., 1997). Bu heteromerik kompleksler daha sonra çekirdeğe taşınır, burada transkripsiyon faktörleri olarak işlev görürler. Smad 3 fosforilasyonunun inhibitörü olan Smad 3'ün spesifik inhibitörü, TGF- β 1/Smad 3 ile modüle edilmiş transkripsiyonu baskılayarak TGF- β 1'e bağlı Smad 3 fosforilasyonunu seçici olarak inhibe eden ve Smad 4 ile heteromerik komplekslerin oluşumunu bloke eden, geçirgen bir pirolipiridin bileşiğidir (Jinnin ve ark., 2006). TGF- β 1/Smad 3 sinyali HIF- α ekspresyonunu ve/veya protein stabilitesini düzenleyebildiğinden, bu yolağın bloke edilmesi doku enflamasyonunun HIF- α aracılı alevlenmesini azaltabilir. TGF- β 'dan sinyalleri ileten Smad 3 içermeyen farelerin incelendiği bir çalışmada, vahşi tip farelere kıyasla hızlandırılmış kutanöz ve palatal yara iyileşmesinin olduğu gözlenmiştir (Ashcroft ve ark., 1999). Smad 3 geninin RNA ile hedeflenmesi ayrıca yara iyileşmesini hızlandırır ve palatal mukoperiosteal yaralarda yara kontraksiyonunu engeller (Yoneda ve ark., 2013).

Prolil hidroksilaz-2 (PHD-2) ekspresyonunu kontrol eden hücresel yönler hakkında çok az şey bilinmektedir. Hipoksi ve TGF- β 1'in transkripsiyonel düzenleme yoluyla PHD-2 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. TGF- β 1'in PDL hücrelerinde PHD-2 ekspresyonunu negatif olarak düzenlediği mekanizma hakkında daha fazla bilgi edinmek için, çeşitli TGF- β 1 konsantrasyonlarına yanıt olarak protein seviyelerinin ölçüldüğü bir çalışmada, mRNA ve protein ekspresyonu, TGF- β 1 stimülasyonu olmadığında yüksek seviyelerde bulunmuştur; bununla birlikte, TGF- β 1 stimülasyonuna yanıt olarak, PHD-2 ekspresyonunda azalma ve Smad 3 fosforilasyonunda aşamalı bir artış gözlenmiştir. Ayrıca, TGF- β 1/Smad 3 sinyal yolunun bloke edilmesi ile HIF- α 'nın bozulmasına yol açan ve doku iltihabının ilerlemesini sınırlayabilen PHD-2

ekspresyonunun indüklendiği gözlenmiştir (McMahon ve ark., 2006a; Watanabe ve ark., 2013a). Diyabetik farelerde yara iyileşmesini inceleyen bir çalışmada, PHD-2'si susturulmuş fibroblastlar incelenmiştir. Elde edilen sonulara göre, HIF-1 α ve VEGF ekspresyonunun arttığı ve aynı zamanda fibroblast çoğalmasını artırarak yara iyileşmesine olumlu katkı gösterdiği gözlenmiştir (Zhang ve ark., 2013).

Büyüme ve Farklılaşma Faktörlerinin Rolü

Yara iyileşmesi birkaç hücre tipinin göçünü, adezyonunu, çoğalmasını ve farklılaşmasını içerir. Tüm bu aktiviteler, polipeptit mediatörlerin hücre yüzeyi reseptörlerine bağlandığında ve integrinler ECM bileşenlerine bağlandığında tetiklenir. Farklı büyüme faktörleri farklı hücre fonksiyonlarını düzenler. Örneğin, EGF ailesinin bir üyesi olan TGF- α , heparin bağlayıcı EGF, keratinosit büyüme faktörü (KGF, FGF-7 olarak da adlandırılır) ve TGF- β ile bu faktörlerin reseptörleri reepitelizasyona katılırlar. KGF'nin ekspresyonu, yaralanmadan 24 saat sonra 100 kat artar (Martin, 1997). Fibroblast Büyüme Faktörü-1 (FGF-1) ve Fibroblast Büyüme Faktörü-2 (FGF-2) (asidik ve bazik FGF), VEGF, TGF- β , anjiyogenin, anjiyotropin, anjiyopoietinler ve hepatosit büyüme faktörü anjiyogenezi güçlü bir şekilde etkiler (Conway ve ark., 2001). FGF-1, -2, -7 ve fibroblast büyüme faktörü-10 (FGF-10), reepitelizasyon ve anjiyogeneze sorumludur ve bu fibroblast büyüme faktörlerinin lokal uygulanması sonucu periodontal dokulardaki yara onarımını hızlandırdığı bildirilmiştir. FGF-7 ve -10'a bağlanan fibroblast büyüme faktörü reseptörü-2IIIB'nin fonksiyonuna müdahale sonucunda, yara onarımının etkilendiği gösterilmiştir (Singer ve Clark, 1999). Fibroblastlara ve diğer mezenkimal hücrelere mitojenik olan PDGF, yaralarda önemli bir büyüme faktörüdür ve diş eti epiteli bu büyüme faktörünün zengin bir kaynağıdır (Green ve ark., 1997).

Fibroblastlardaki kollajen sentezi TGF- β ve bağ dokusu büyüme faktörü ile aktive edilir. TGF- β ayrıca PDGF ile yara kontraksiyonuna katılır (Grzesik ve Narayanan, 2002).

Son zamanlarda yapılan çalışmaların sonucunda Forkhead box-O (FOXO) transkripsiyonel regülatör ailesinin, konak hücre yanıtında kritik bir öneme sahip olduğu gösterilmiştir. FOXO transkripsiyonel regülatör ailesi FOXO1, FOXO3, FOXO4 ve FOXO6 olmak üzere 4 üyeden oluşmaktadır (Eijkelenboom ve Burgering, 2013; Wang ve ark., 2014). Aktif FOXO'nun, serbest oksijen radikallerini parçalayan enzimlerin indüksiyonu yoluyla oksidatif strese karşı hücrelerin korunmasında rol aldığı gösterilmiştir (Storz, 2011). Ek olarak, FOXO transkripsiyon faktörlerinin, hücre döngüsü, doğal immün yanıt ve apoptoz dâhil olmak üzere bir dizi kritik konak hücre işlemini kontrol eden çeşitli gen ekspresyon programlarını düzenleyebildiği bildirilmiştir (Eijkelenboom ve Burgering, 2013; Wang ve ark., 2014). FOXO1 ve FOXO4'ün doku onarımı sırasında rol aldığı gösterilmiştir. Normal yaralarda epidermiste tipik FOXO1 ve FOXO4 seviyeleri eksprese edilirken, diyabetik bozulmuş yaralarda apoptozu indükleyen ve yara iyileşme sürecini geciktiren gelişmiş FOXO1 ve FOXO4 aktivasyonu gözlenmektedir (Markus Roupé ve ark., 2010).

3. MATERYAL METOD

Bu araştırmaya, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim dalına muayene ve tedavi amacıyla başvuran hastalardan çalışma kriterlerine uygun olan hastalar dâhil edilmiştir. Çalışmaya; Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun, 19-KAEK-028 kayıt numaralı, 19.02.2019 tarihli onayını takiben başlanmıştır. Tüm hastalara yapılacak işlemler detaylı bir şekilde yazılı ve sözlü olarak bildirilmiştir.

3.1. Hasta Seçim Kriterleri

Bu tez çalışması, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalına tedavi olmak üzere gelen:

Çekim endikasyonu konulmuş yirmi yaş dişi olan,

Kron boyu uzatma ve gingivektomi endikasyonu olan,

Medikal anamnezinde sistemik hastalık hikâyesi olmayan,

Son 6 ay içinde diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzeltilmesi tedavisi görmemiş, antibiyotik kullanmamış,

Sigara kullanmayan,

Ağzında en az 20 dişi bulunan,

18-50 yaş aralığında ve

Rutin klinik ve radyografik muayenelerde periodontitis, periimplant mukozitis, periimplantitis teşhisi konulan (sağlıklı grup hariç), toplam 64 hasta ile yürütülmüştür.

'Aydınlatılmış onam formu'nu imzalayanlar çalışmaya dâhil edilmiştir.

3.2. Çalışma Grupları

Grup PI: Periimplantitisli hastalar (n=16)

Diş eti örnekleri 16 hastadan alınmıştır. Alınan diş eti örneklerinden 8'i tamponlanmış nötral formaldehite konulup, histolojik analiz yapılmıştır. Diğer 8'i ise sıvı azotta dondurularak RT-PZR uygulanmıştır.

Grup PM: Periimplant mukozitisli hastalar (n=16)

Diş eti örnekleri 16 hastadan alınmıştır. Alınan diş eti örneklerinden 8'i tamponlanmış nötral formaldehite konulup, histolojik analiz yapılmıştır. Diğer 8'i ise sıvı azotta dondurularak RT-PZR uygulanmıştır.

Grup P: Periodontitis hastaları (n=16)

Diş eti örnekleri 16 hastadan alınmıştır. Alınan diş eti örneklerinden 8'i tamponlanmış nötral formaldehite konulup, histolojik analiz yapılmıştır. Diğer 8'i ise sıvı azotta dondurularak RT-PZR uygulanmıştır.

Grup S: Sağlıklı (n=16)

Diş eti örnekleri 16 hastadan alınmıştır. Alınan diş eti örneklerinden 8'i tamponlanmış nötral formaldehite konulup, histolojik analiz yapılmıştır. Diğer 8'i ise sıvı azotta dondurularak RT-PZR uygulanmıştır.

Hastaların detertraj ve subgingival küretaj işlemini içeren periodontal tedavilerine başlanılıp, çekim endikasyonu konulmuş yirmi yaş dişi, diş eti büyümesi ve gingivektomi endikasyonu konulmuş olan veya preprotetik olarak kron boyu uzatma operasyonu ihtiyacı olan alanlardan eksize edilen 2x2 mm diş eti örnekleri alınmıştır (Brecx ve ark., 1987).

3.3. Periodontal İndeksler

Çalışmaya dâhil edilen hastaların periodontal tedavisine başlanmadan önce, tüm dişlerinden Williams sondu kullanılarak Pİ ve Gİ değerleri alınmıştır. Ayrıca diş eti örneğinin alındığı bölgedeki dişlerdeki periodontal cep derinliği (CD) ve klinik ataçman seviyesi (KAS) kaydedilmiştir.

3.3.1. Plak İndeksi (Pİ)

Dişler yüzeyindeki plağın ve eklentilerin miktarını ölçmek için Silness-Löe plak indeksi kullanılmıştır. Periodontal sond (Hu-Friedy Periodontal Sond #, Hu-Friedy, Chicago, IL), serbest diş eti kenarı boyunca diş yüzeyine paralel şekilde diş eti oluğunda gezdirilerek plak miktarı skorlanmıştır. Bu indeks'e göre skorlar:

0- Diş yüzeyinde herhangi bir eklenti ve plağın olmaması durumudur.

1- Serbest diş eti kenarı ve ona komşu olan alanda film şeklinde ince bir plak tabakası bulunmaktadır. Gingival marjinde sondu gezdirerek veya boyayıcı solüsyon uygulanarak görülebilmektedir.

2- Diş eti cebi yüzeyinde gözle görülebilen orta derecede yumuşak eklenti birikiminin olduğu durumlardır.

3- Diş eti cebi ve komşu diş yüzeyinde yoğun bir şekilde yumuşak eklenti olduğu durumlardır (Silness ve Löe, 1964).

3.3.2. Gingival İndeks (Gİ)

Diş etindeki enflamasyonun ve kanamanın tespiti için Löe-Silness gingival indeksi kullanılmıştır. Periodontal sond, diş eti kenarına temas ettirilip diş yüzeyinde

gezdirilerek oluşan kanama ve diş eti yüzey özelliklerine göre skorlama yapılır. Bu indeks'e göre skorlar:

0-Normal, sağlıklı diş eti,

1-Hafif enflamasyon, renkte hafif değişiklik, sondalamada kanama yok,

2-Orta derecede enflamasyon, kırmızılık ve parlaklık, sondalamada kanama,

3-Şiddetli enflamasyon, belirgin kırmızılık ve ülserasyon, spontan kanamaya eğilim (Löe ve Silness, 1963).

3.3.3. Periodontal Cep Derinliği (CD)

Cep derinliği ölçümü için klinikte rutin olarak kullanılan periodontal sond (Willams) diş eti içinde dişin uzun aksına paralel olarak itilip ilk direnç görülen yerde durularak diş eti kenarı ile cep tabanı arasındaki mesafe ölçülür.

3.3.4. Klinik Ataçman Seviyesi (KAS)

Klinik ataçman seviyesi ölçümleri ağız aynası ve periodontal sond yardımı ile yapılmıştır. KAS ölçümleri mine-sement sınırından cep tabanına olan mesafenin ölçülmesi ile belirlenmiştir.

3.4. Diş Eti Örneklerinin Homojenizasyonu

Alınan diş eti dokularının bir kısmı sıvı nitrojende dondurularak bir homojenizatör yardımıyla homojenize edilmiştir. 25000g'de 16 dakika santrifüj edilerek homojenatlar elde edilmiştir. FOXO4, Smad 3, FGF-7, HIF-1 α , VEGF ve PHD ekspresyonları gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile tespit edilmiştir.

3.5. PZR Analizi

İlk olarak mRNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. mRNA izolasyonu daha önce Çağan ve arkadaşlarının çalışmasında tarif edildiği gibi QIAzol RNA ekstraksiyon reaktifi kullanılarak elde edilmiştir. Kısaca, doku homojenatları QIAzol içinde lizis edilerek 5 dakika süreyle bir çalkalayıcıda rotasyonda bırakılmıştır. Daha sonra kloroform ilave edilip 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra numuneler santrifüj edilip sulu faz bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Sulu faza izopropanol eklenip ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilip tekrar santrifüj edilmiştir. Santrifüjlemeyi takiben, dipte biriken pelet kısmı % 75'lik soğuk etanol ile yıkandıktan sonra tekrar santrifüj edilip ve RNase içermeyen steril saf su içinde süspanse edilmiştir. Elde edilen mRNA'nın miktarı bir nanodrop yardımıyla belirlenmiştir. Daha sonra SYBR Green 1-Step qRT-PZR kiti kullanılarak, 1 mg mRNA ilgili geni hedefleyen spesifik primerler yardımıyla tek basamakta cDNA dönüştürüp ardından qRT-PZR yardımıyla gen ekspresyonları belirlenmiştir. FOXO4, Smad 3, FGF-7, HIF-1 α , VEGF ve PHD gen ekspresyonları kontrol geni olan β -aktin oranına normalize edilmiştir (Cacan ve ark., 2014).

Tablo 3.1.: Primer antikorların baz dizilimleri

Smad 3	(forward) 5' –GCTCTGCTTCATCCCACTATTA- 3'	(reverse) 5' –TGCGAGTCCTCCTACTGCTAC- 3'
FGF-7	(forward) 5' –TCTGTGGAACACAGTGGTACCT- 3'	(reverse) 5' –GTGTGTCCATTAGCTGATGCAT- 3'
HIF-1α	(forward) 5' –AGCCGAGGAAGAACTATGAAC–3'	(reverse) 5' –ATTTGATGGGTGAGGAATGGG–3'
VEGF	(forward) 5'–CCTCCGAAACCATGAACTTTCTGCTC-3'	(reverse) 5'–CAGCCTGGCTCACCGCCTTGGCTT-3'
FOXO4	(forward) 5'– CTTTCTGAAGACTGGCAGGAATGTG-3'	(reverse) 5'–GATCTAGGTCTATGATCGCGGCAG-3'
PHD	(forward) 5'–GCACGACACCGGGAAGTT–3'	(reverse) 5'–CCAGCTTCCCGTTACAGT–3'
β-aktin	(forward) 5' –GTGCCACCAGACAGCACTGTGTTG- 3'	(reverse) 5' –TGGAGAAGAGCTATGAGCTGCCTG- 3'

3.6. İmmünohistokimya Boyama

Formaldehitte 48 saat süresince fiks edilen dış eti örnekleri, ilk olarak azalan alkol serisi ile dehidre edilmiştir. Daha sonra ksilen ile temizlenip parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan kesitler alınmıştır. Her bir boyama prosedürü için her bloktan üç kesit seçilmiştir. Seçilen tüm kesitlere hematoksin ve eozin (H&E) boyama ve immünohistokimya uygulanmıştır. Her bir bloktan elde edilen kesitler için üç farklı bölge seçilmiştir. İlk olarak tüm kesitler ksilen ile deparafinize edilip, azalan alkol serisi ile dehidre edilmiştir. Distile su ile yıkandıktan sonra, 70 ° C'de iki saat süreyle sodyum sitrat tamponu (pH 6.0) yoluyla antijen geri kazanımı sağlanmıştır. Ardından endojen peroksidaz aktivitesi, % 3'lük hidrojen peroksit ile baskılanmıştır. Hidrojen peroksit uygulandıktan sonra tüm kesitler normal rabbit serumu ile 30 dakika inkübe edilmiştir. Normal serum inkübasyonundan sonra, primer antikor solüsyonu hazırlanmış ve 4 ° C'de nemlendirilmiş bir odada gece boyunca örneklerle uygulanmıştır. Birincil antikor inkübasyonundan sonra, tüm kesitler fosfat tampon çözeltisi (PBS) ile üç kez beş dakika

(3x5) boyunca yıkayıp ve biyotinlenmiş immünoglobulin G, 30 dakika süreyle uygulanmıştır. Ardından yine 3x5 PBS ile yıkama yapıp, tüm numuneler bir 30 dakika daha streptavidin-horseradish peroksidaz ile konjuge reaktife maruz bırakılmıştır. 3x5 PBS ile yıkandıktan sonra, boyamayı görselleştirmek için tüm bölümlere 3-amino-9-etilkarbazol kromojen uygulanmıştır. Daha sonra Meyer's hematoksilen ile zıt boyama yapılmıştır. İki gün kurumaya bırakıldıktan sonra, kesitler ışık mikroskobu (Nikon Eclipse, E 600, Tokyo, Japonya) kullanılarak 400 büyütme altında incelenmiştir (Balci Yuce ve ark., 2019; Toker ve ark., 2018). İmmünohistokimyasal boyama yöntemi ile FGF-7 ve Smad 3 genlerinin analizleri yapılmıştır ve dokudaki protein seviyelerine bakılmıştır.

3.6.1 İmmünohistokimyasal H Skor Analizi

Diş eti epitel dokusunun altındaki bağ dokusu incelenmiştir. Her kesitten üç alan seçilip, analiz edilmiştir. Tüm hücreler; boyanma olmaması "0", düşük boyama "1", hafif boyama "2" ve yoğun boyama "3" şeklinde boyanmalarına göre sayılmıştır. Boyama skorları, immünohistokimya için sıklıkla kullanılan formül ($\sum P_i (i+1)$), aracılığıyla 'H skoru' olarak sayısal bir değere dönüştürülmüştür. Bu formülde i, boyama yoğunluğu skorunu gösterir ve P_i , boyanan hücrelerin yüzdesini gösterir (Balci Yuce ve ark., 2019; Toker ve ark., 2018) .

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS programında verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlenmiştir. Çalışmadaki denek sayısı Minitab 16 programında 'güç analiz testi' ile belirlenmiştir (SPSS inc, Chicago, IL.).

Veri analizlerinde; normal dağılım gösteren veri grupları için parametrik testler olarak bağımsız örneklerde t testi, One Way ANOVA ve Tukey testi uygulanmıştır. Normal dağılım göstermeyen veri grupları için non-parametrik testler olarak Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. Demografik verilerin istatistik analizinde Ki-Kare testi, gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde bağımsız örneklerde t testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $*p<0,05$ olarak kabul edilmiştir. Veriler IBM SPSS Statistics Version 20 paket yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR

Çalışmaya katılan tüm hastalardan periodontal klinik ölçümler alınmıştır.

Çalışmanın demografik verileri ve klinik ölçüm sonuçları Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. : Çalışma gruplarında demografik veriler ve klinik ölçümler

Gruplar	Sağlıklı	Periodontitis	Periimplant Mukozitis	Periimplantitis
Yaş	26,75±5,0	41,25±7,75 ^a	39,81±14,29 ^a	46,62±8,97 ^a
Cinsiyet	1,56±0,51	1,37±0,5	1,56±0,51	1,37±0,5
Pİ	1,31±0,6	1,5±0,51	1,37±0,5	1,43±0,51
Gİ	1,31±0,7	1,62±0,5	1,5±0,51	1,87±0,34 ^a
CD	2,21±0,63	5,06±0,97 ^a	4,93±0,76 ^a	7,29±0,99 ^{a,b,c}
KAS	0	5,46±1,05 ^a	4,99±0,74 ^a	7,56±1,07 ^{a,b,c}

* ^ap<0,05 sağlıklı gruptan, ^bp<0,05 periodontitis grubundan, ^cp<0,05 periimplant mukozitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Gruplar arasındaki yaş istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, sağlıklı grup diğer gruplardan daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Gruplarda, Pİ ve cinsiyet değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Gİ değerlerinde, sağlıklı grup ile periimplantitis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Sağlıklı gruptaki Gİ değerleri düşük, periimplantitis grubundakiler ise yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$). CD ve KAS değerlerinde, periodontitis ve periimplant mukozitis gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Diğer tüm karşılaştırmalarda istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($p<0,05$).

4.1. İmmünohistokimya Bulguları

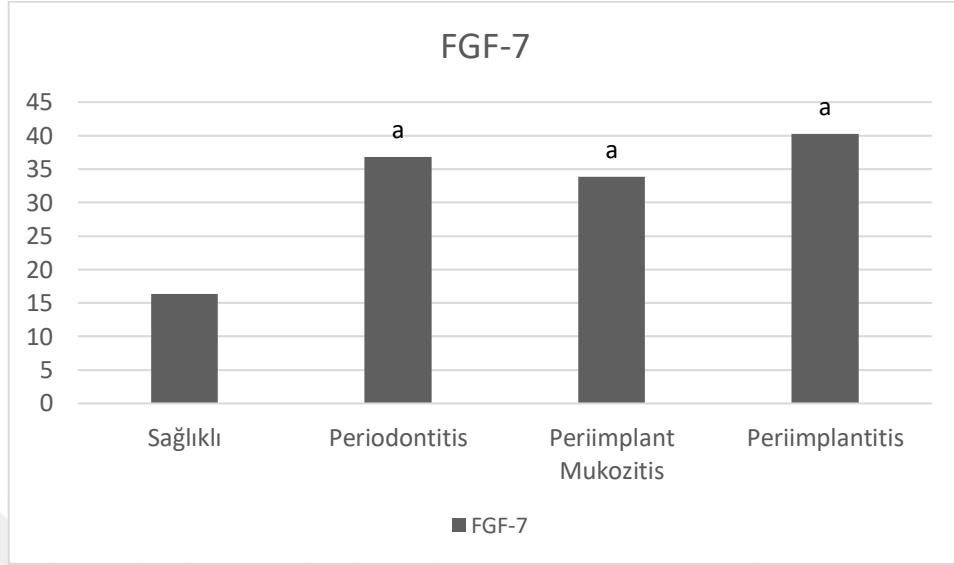
Formaldehitte fikse edilen diş eti örnekleri parafine gömüldükten sonra doku takibi başlatılmıştır. Diş eti dokusundaki Smad 3 ve FGF-7 ekspresyonları tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. FGF-7 ve Smad 3'ün immünohistokimya bulguları

Gruplar/ H Skorları	Sağlıklı	Periodontitis	Periimplant Mukozitis	Periimplantitis
FGF-7	16,39±7,14	36,77±10,28 ^a	33,81±9,44 ^a	40,26±13,35 ^a
Smad 3	25,79±13,59	46,39±13,18 ^a	49,30±11,73 ^a	58,83±12,20 ^{a,b}

* ^ap<0,05 sağlıklı gruptan, ^bp<0,05 periodontitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

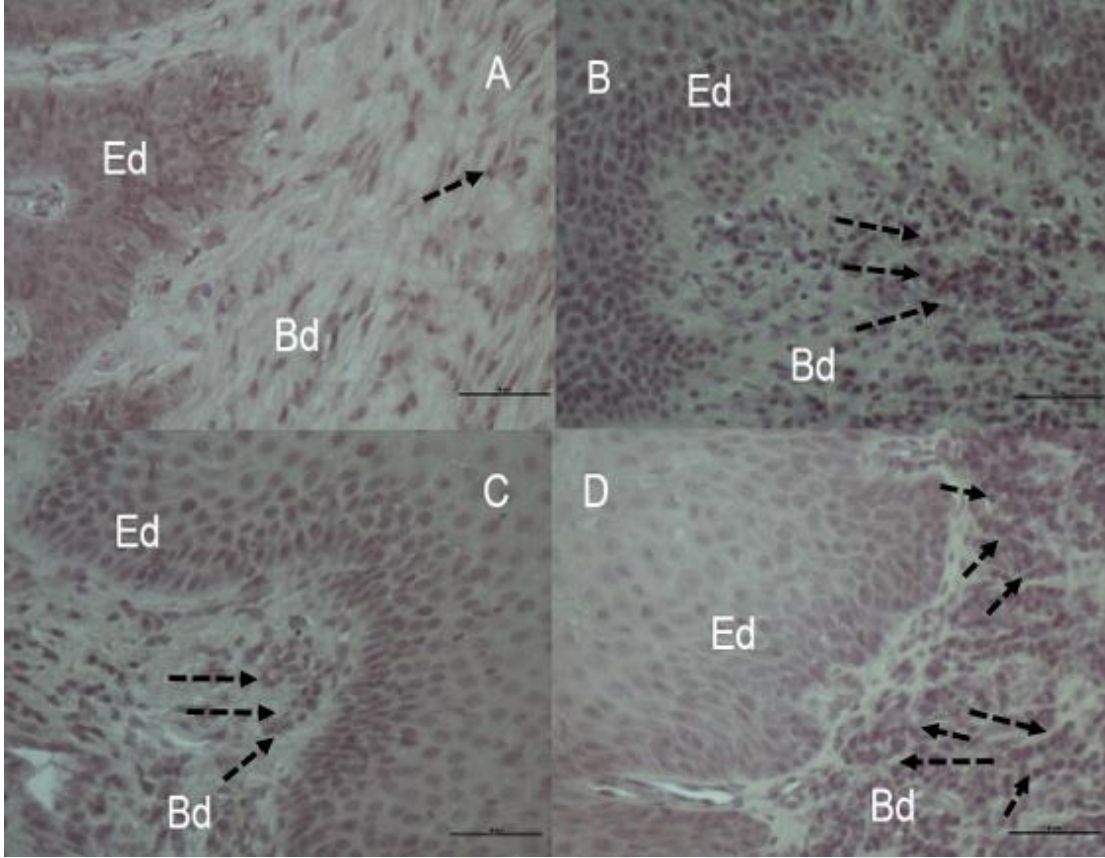
4.1.1. FGF-7



*^ap<0,05 sağlıklı gruptan farklılığı ifade etmektedir.

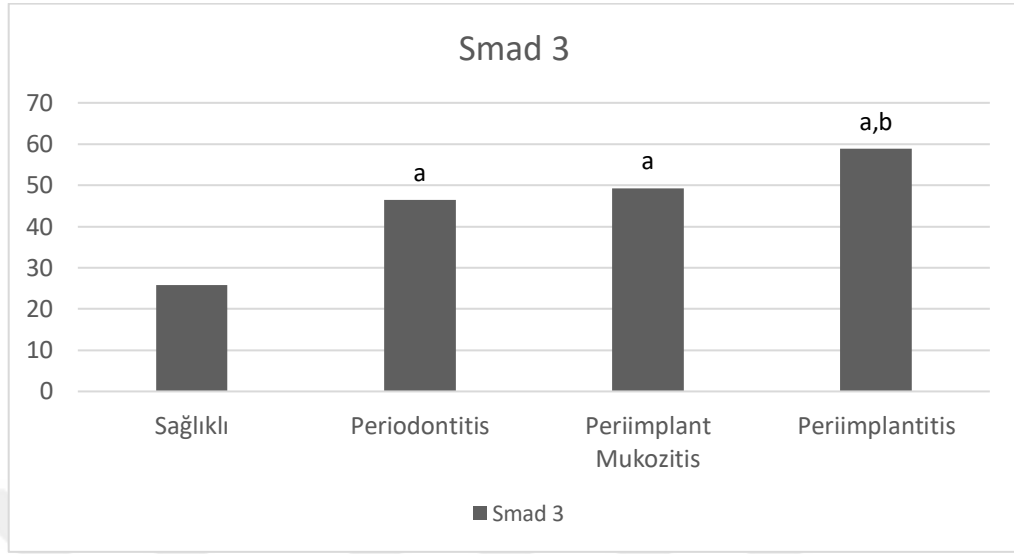
Şekil 4.1.: FGF-7 İmmunohistokimya bulguları

FGF-7 değerlerinde sağlıklı grup, istatistiksel olarak tüm diğer gruplardan daha düşük değerlere sahip bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer grupların değerleri, kendi içlerinde benzer olarak bulunmuştur ($p>0,05$).



Şekil 4.2.: Çalışma gruplarındaki FGF-7'nin immünohistokimya görüntüleri. A: Sağlıklı grup; B: Periodontitis grubu; C: Periimplant Mukozitis grubu; D: Periimplantitis grubu. Ed: Epitel dokusu; Bd: Bağ dokusu. Kesikli çizgiler nötrofil infiltrasyonunu göstermektedir.

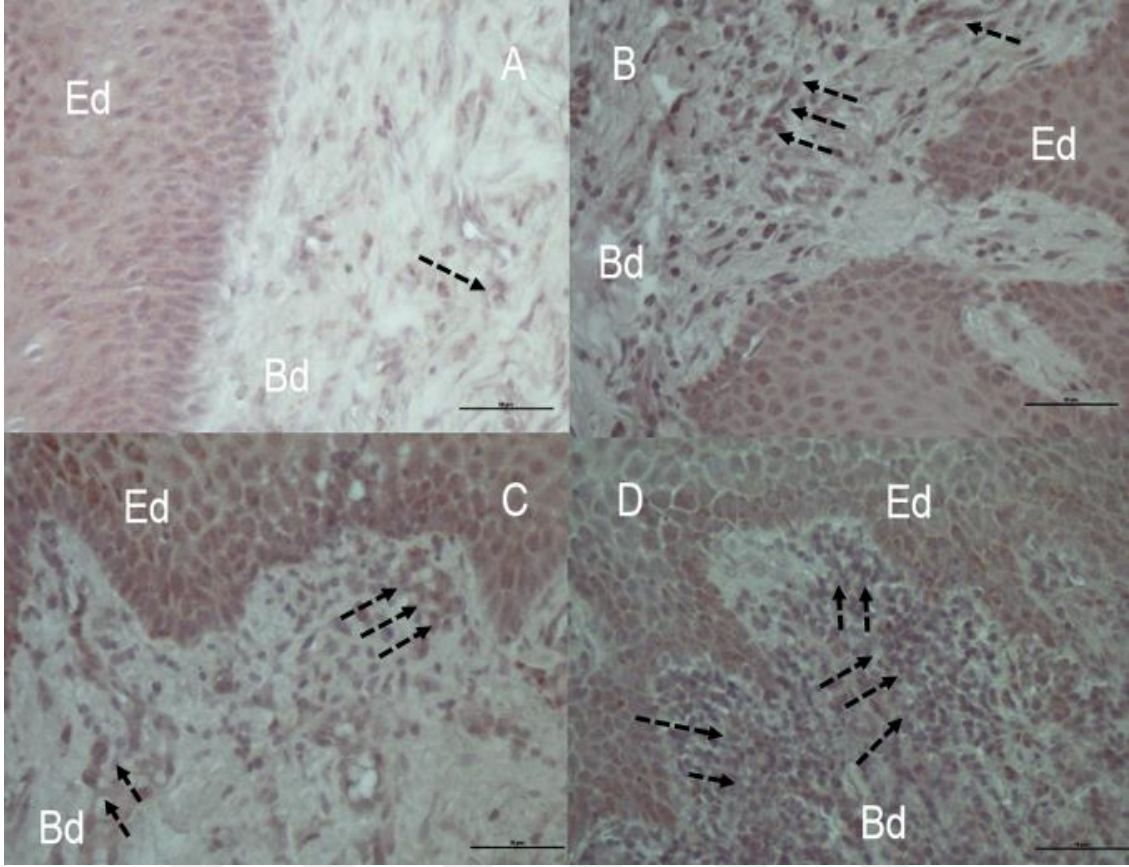
4.1.2. Smad 3



* ^ap<0,05 sağlıklı gruptan, ^bp<0,05 periodontitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Şekil 4.3.: Smad 3 İmmünohistokimya bulguları

İstatistiksel olarak Smad 3 değerlerinde, sağlıklı grup diğer gruplara göre daha düşük değerlere sahip bulunmuştur ($p<0,05$). Periodontitis grubu ise periimplantitis grubuna göre daha düşük değerlerde bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

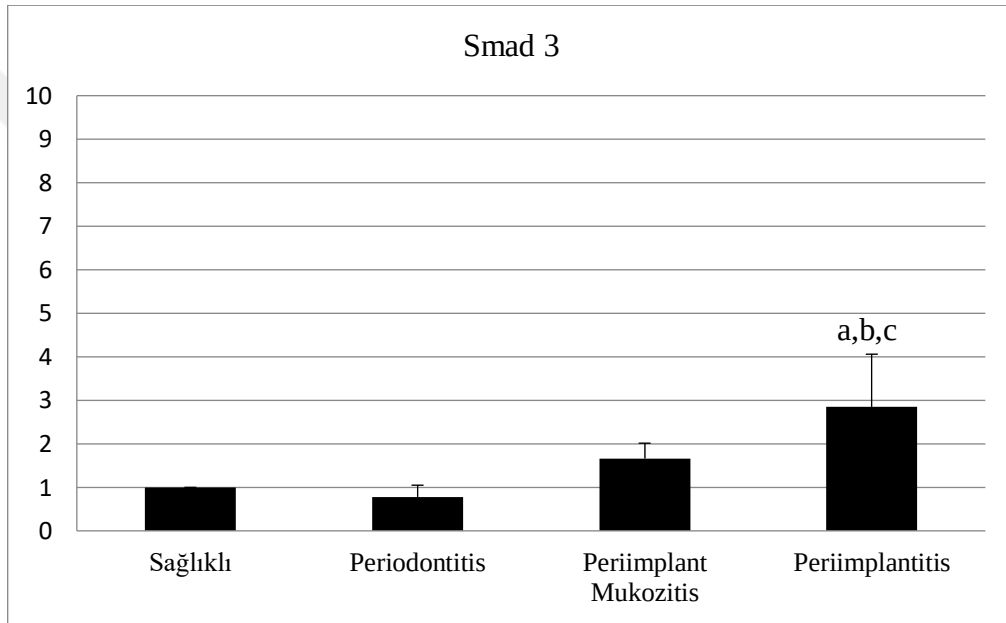


Şekil 4.4.: Çalışma gruplarındaki Smad 3'ün immünohistokimya görüntüleri. A: Sağlıklı grup; B: Periodontitis grubu; C: Periimplant Mukozitis grubu; D: Periimplantitis grubu. Ed: Epitel dokusu; Bd: Bağ dokusu. Kesikli çizgiler nötrofil infiltrasyonunu göstermektedir.

4.2. PZR Bulguları

4.2.1. Smad 3 Ekspresyonu

Yapılan PZR analizleri sonucunda Smad 3 ekspresyon seviyesinde; periimplantitis grubu diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

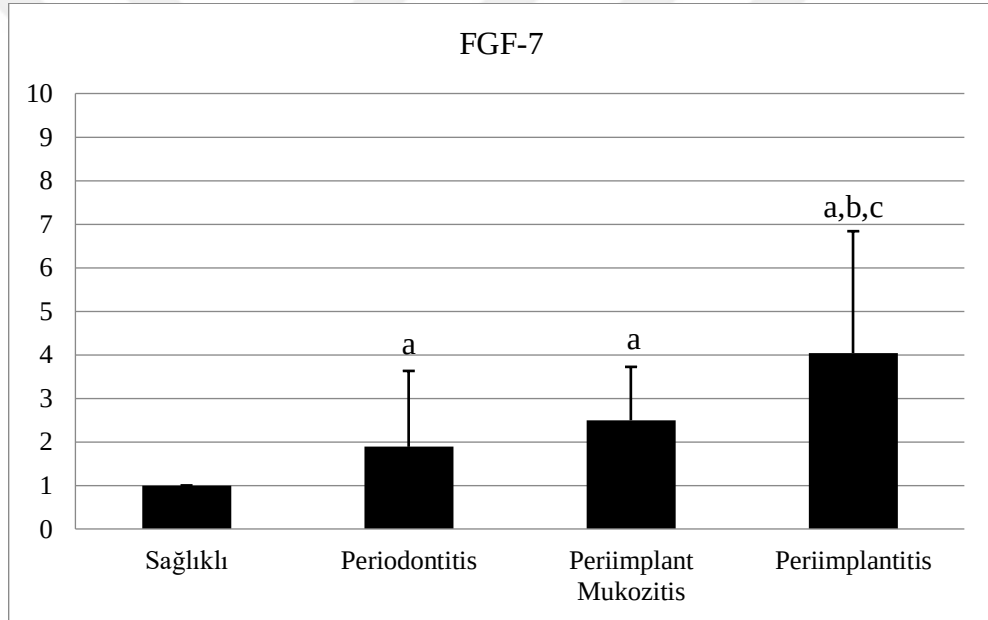


* ^a $p<0,05$ sağlıklı gruptan, ^b $p<0,05$ periodontitis grubundan, ^c $p<0,05$ periimplant mukozitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Şekil 4.5.: Smad 3 gen ekspresyonu

4.2.2. FGF-7 Ekspresyonu

Yapılan PZR analizleri sonucunda FGF-7 ekspresyon seviyesinde; sağlıklı grup ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca periimplantitis grubu, periimplant mukozitis ve periodontitis gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Periimplant mukozitis grubunda FGF-7 ekspresyonu periodontitis grubuna göre bir miktar yüksek bulunmuş olmasına rağmen, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

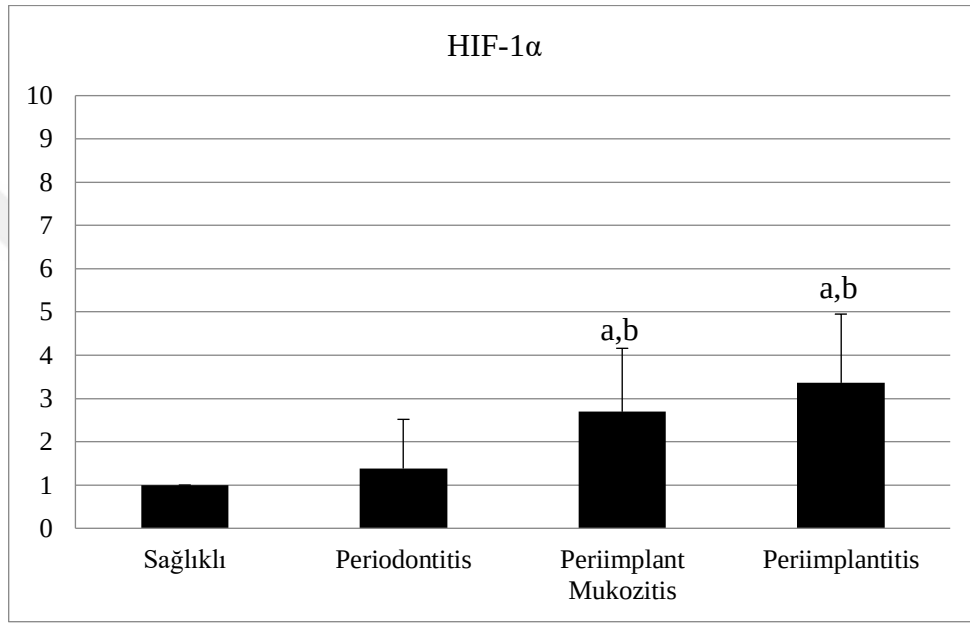


* ^a $p<0,05$ sağlıklı gruptan, ^b $p<0,05$ periodontitis grubundan, ^c $p<0,05$ periimplant mukozitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Şekil 4.6.: FGF-7 gen ekspresyonu

4.2.3. HIF-1 α Ekspresyonu

Yapılan PZR analizleri sonucunda HIF-1 α ekspresyon seviyesinde; periimplantitis ve periimplant mukozitis grupları, sağlıklı ve periodontitis gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

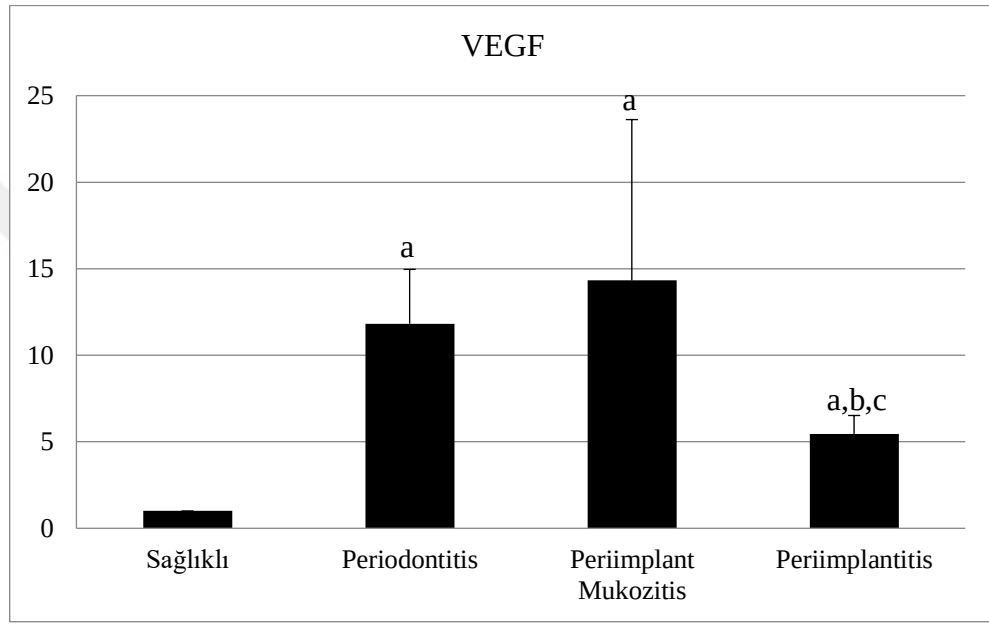


* ^a $p<0,05$ sağlıklı gruptan, ^b $p<0,05$ periodontitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Şekil 4.7.: HIF-1 α gen ekspresyonu

4.2.4. VEGF Ekspresyonu

Yapılan PZR analizleri sonucunda VEGF ekspresyon seviyesinde; sağlıklı grup ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca periimplant mukozitis ve periodontitis grubu periimplantitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

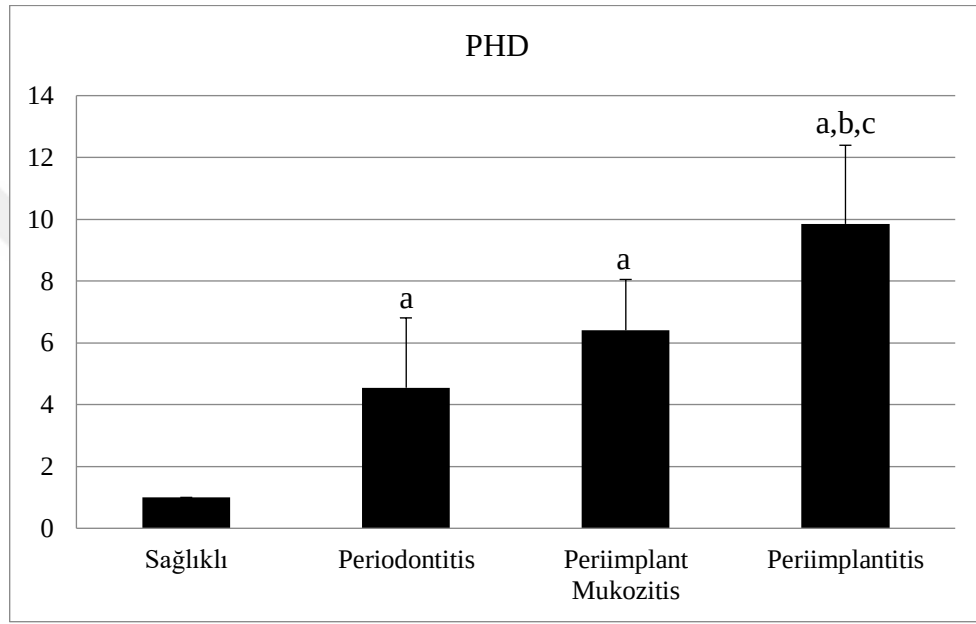


* ^a $p<0,05$ sağlıklı gruptan, ^b $p<0,05$ periodontitis grubundan, ^c $p<0,05$ periimplant mukozitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Şekil 4.8.: VEGF gen ekspresyonu

4.2.5. PHD Ekspresyonu

Yapılan PZR analizleri sonucunda PHD ekspresyon seviyesinde; sağlıklı grup ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Periimplantitis grubu, periimplant mukozitis ve periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

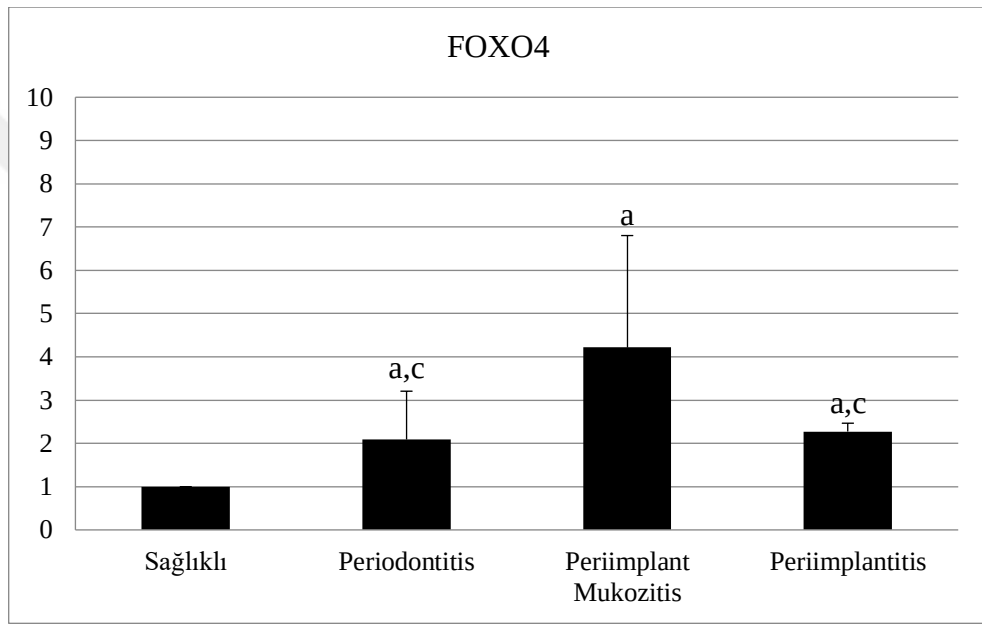


* ^a $p<0,05$ sağlıklı gruptan, ^b $p<0,05$ periodontitis grubundan, ^c $p<0,05$ periimplant mukozitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Şekil 4.9.: PHD gen ekspresyonu

4.2.5. FOXO4 Ekspresyonu

Yapılan PZR analizleri sonucunda FOXO4 ekspresyon seviyesinde; sağlıklı grup ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca periimplant mukozitis grubu diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Periimplantitis ve periodontitis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).



* ^a $p<0,05$ sağlıklı gruptan, ^c $p<0,05$ periimplant mukozitis grubundan farklılığı ifade etmektedir.

Şekil 4.10.: FOXO4 gen ekspresyonu

5. TARTIŞMA

Periodontitis, primer etyolojisinde disbiyotik ekolojik değişikliğe uğramış mikrobiyal dental plağın olduğu, konak aracılı enflamasyon ve progresif periodontal ataçman kaybı ile karakterize, enflamatuvar, enfeksiyöz ve destrüktif bir periodonsiyum hastalığıdır. Periimplant mukozitis, periimplant mukozanın geri dönüşümlü enfeksiyöz enflamatuvar hastalığıdır. Periimplant mukozitis, ilk iyileşmeyi takiben ek kemik kaybı olmaksızın enflamasyon belirteçlerinin (kızarıklık, şişme, sondalamada kanama ve/veya sondalamadan sonraki 30 saniye içinde süpürasyon) varlığı ile karakterizedir (Renvert ve ark., 2018). Periimplantitis ise periimplant dokuların irreversible, enflamatuvar, enfeksiyöz ve destrüktif hastalığıdır. Periimplantitis, periimplant mukozitisteki enflamasyon belirteçlerinin varlığıyla birlikte, implantın üst yapısının tesliminden bir yıl sonra radyografik olarak ≥ 2 mm kemik kaybının gözlenmesi ve artan sondalama derinliği ile karakterizedir (Berglundh ve ark., 2018b; Caton ve ark., 2018; Renvert ve ark., 2018).

Bu tez çalışmasında hasta grupları sağlıklı, periodontitis, periimplant mukozitis ve periimplantitis olmak üzere sayıca eşit dört gruptan oluşmaktadır. Toplamda 64 birey üzerinde yapılan bu çalışmada “Hastalıklı ve sağlıklı implant çevresi diş eti bağ dokularının HIF-1 α , Smad 3 ve FOXO4 seviyelerinin belirlenmesi” amaçlanmıştır. Bu amaçla, diş eti doku homojenatlarında PZR analizi ile HIF-1 α , Smad 3, FOXO4, VEGF, FGF-7 ve PHD gen ekspresyonları; immünohistokimyasal analizlerle de FGF-7 ve Smad 3 genlerinin ekspresyonlarına bakılmıştır. Tüm gruplardan elde edilen diş eti biyopsileri hem PZR analizi ile hem de immünohistokimyasal analizlerle araştırılmıştır.

Periodonsiyumdaki iltihaplı ve hasarlı dokuların çevresi, düşük oksijen ve glukoz seviyeleri ile yüksek seviyelerde enflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen radikalleri, nitrojen türleri ve metabolitleri ile karakterizedir. Dokulardaki hemostazı korumak için

hipoksiye yanıt olarak bir transkripsiyon faktörü olan HIF proteinini eksprese edilir. Periodontitisin patogenezinde çok önemli olan TNF- α gibi bazı proenflamatuvar mediatörler, çeşitli hücrelerde HIF-1 α yolunu aktive eden hipoksik olmayan uyaranolardır. Dolayısıyla, HIF-1 α iltihaplı periodontal dokularda birikebilir. Shi ve ark. HIF-1 α ekspresyonunun artmasının periodontitisin artan şiddeti ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (Shi ve ark., 2015). Benzer şekilde, Gonzalez ve ark. periodontitis ve diyabet gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda, HIF-1 α ile VEGF'nin arttığını bildirmişlerdir (Gonzalez ve ark., 2019). Bunun dışında Peyssonnaud ve ark. HIF-1 α 'nın epitelin doğuştan gelen savunma mekanizmasında bir role sahip olduğunu göstermişlerdir. Böyle bir rol, periodontal sağlık için önemli olabilir çünkü klinik olarak normal bölgelerde bile, subgingival bakteriyel tehdit her zaman mevcuttur (Peyssonnaud ve ark., 2008).

King-Tung Ng ve ark. sağlıklı ve hastalıklı periodontal dokulardaki HIF-1 α ekspresyon seviyelerini histolojik olarak incelemişlerdir. Buldukları sonuçlara göre, özellikle kronik periodontitisli hastalardan alınan diş eti biyopsilerinde fibroblast benzeri hücrelerde HIF-1 α proteininin artmış ekspresyonunu göstermişlerdir (Ng ve ark., 2011b). MF de Araújo ve arkadaşları, hastalıklı ve sağlıklı periimplant dokulardaki HIF-1 α değerlerini karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, perimplantitis grubunda önemli ölçüde daha yüksek HIF-1 α immün boyama ve bakteriyel enfeksiyonun yanı sıra; hipoksinin, periodontal hastalık için de tarif edildiği gibi periimplant hastalığının patogenezinde katkıda bulunduğunu göstermişlerdir (De Araújo ve ark., 2017). Bu tez çalışmasında da, periimplantitis ve periimplant mukozitis gruplarındaki HIF-1 α değerleri, sağlıklı ve periodontitis gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bu bulgulara göre; periimplant dokuların, periodontal dokulara göre oksijen

stresinin fazla olduğu düşünülebilir. Aynı zamanda oksijen stresinin, hastalığın şiddetiyle orantılı olarak arttığı görülmektedir. Periimplant dokuların, normal periodonsiyuma göre en az iki kez cerrahi işleme maruz kalması sonucunda, dokularda meydana gelen skardan dolayı normal periodonsiyuma göre daha hipoksik bir ortam oluşur (Berglundh ve ark., 1994; Buser ve ark., 1992). Bu çalışmada HIF-1 α 'nın periimplant dokularda daha fazla ekspresyonunun olması mevcut bulguları desteklemektedir.

Potansiyel olarak patojenik mikroorganizmalar tarafından periodontal dokuların sürekli zorlanması, klinik olarak sağlıklı hastalarda bile enfeksiyona ve virülans ürünlerine bir yanıtı tetikleyebilir. Bu yanıt, hipoksik doku ve patojenik faktörlere karşı enflamatuvar mediatörlerin salınımıyla sonuçlanabilir. Mikroorganizmaların ortadan kaldırılması, herhangi bir enfeksiyona karşı doğuştan gelen ve uyarlanabilir immünolojik mekanizmalara bağlıdır. Dokulardaki düşük oksijen konsantrasyonlarına, memeli hücrelerinden gelen adaptif tepkiye HIF-1 α aracılık eder. Ekspresyonu metabolizma kontrolü, anjiyogenez, apoptozis ve hücrel stres ile ilgili genleri düzenleyebilir. VEGF, patolojik süreçlerde mikro sirkülasyonun düzenlenmesindeki rolü nedeniyle hastalığın ilerlemesinde rol oynayan bu genlerden biridir (Pradeep ve ark., 2011) (Johnson ve ark., 1999; Peyssonnaud ve ark., 2005; Trebec-Reynolds ve ark., 2010).

Periodontal dokularda anjiyogenez'in iki önemli görevi vardır: Anjiyogenez doku yıkımının başlangıcında ve ilerlemesinde patolojik bir faktör olarak rol almasına rağmen, aynı zamanda hasarlı dokuların tamirinde ve rejenerasyonda önemli rol oynamaktadır (Cooke ve ark., 2006). Cetinkaya ve ark. periodontal hastalığın iyileşme aşamasında, yıkım aşamasına kıyasla daha yüksek bir VEGF ekspresyonu olduğunu göstermişlerdir (Cetinkaya ve ark., 2007). Enflamasyon sırasındaki yeni damar oluşumu ve damarlardaki geçirgenlik artışı anjiyojenik faktörler tarafından kontrol edilir (Ihrcke ve ark., 1998).

Yapılan çalışmalar, azalmış anjiyogenez'in riskli yara iyileşmesi ve kemik rejenerasyonu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Albiero ve ark., 2011; Thangarajah ve ark., 2009). Aynı zamanda anjiyogenezi uyaran tedavilerin; kemik rejenerasyonunu, yara iyileşmesini, periodontal onarımı ve rejenerasyonu desteklediğini göstermişlerdir (Galiano ve ark., 2004; Jazwa ve ark., 2010).

Literatürde yapılan çalışmalara göre, anjiyojenik bir faktör olan VEGF ekspresyonunun, HIF-1 α tarafından düzenlendiği ve iltihaplı periodontal dokularda arttığı görülmüştür. (Booth ve ark., 1998; Forsythe ve ark., 1996; Haddad ve Harb, 2005; Ünlü ve ark., 2003).

Roseane Carvalho Vasconcelos ve ark. sağlıklı diş eti dokuları ile kronik periodontitisli ve gingivitisli dokulardaki VEGF immun ekspresyonunu incelemişlerdir. Buldukları sonuçlara göre, periodontitis ve gingivitis vakalarında yüksek oranda VEGF immunopozitif hücre gözlemlemişlerdir. Bunun aksine, sağlıklı gruptaki VEGF ekspresyonunun diğer gruplara oranla önemli miktarda düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlar, VEGF'nin hastalık seyrinde (gingivitisten periodontitise ilerleme) önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Vasküler genişlemeyi ve anjiyogenezi teşvik etme kapasitesi nedeniyle iltihaplanmanın ciddiyeti ile ilişkilendirilmiştir (Vasconcelos ve ark., 2016). Bu çalışmada da aynı şekilde sağlıklı gruptaki VEGF değerleri, diğer gruplara göre anlamlı oranda düşük bulunmuştur.

Bu bulgulara benzer şekilde, Lucarini ve ark. sağlıklı periimplant mukoza, periimplant mukozitis ve periimplantitis hastalarındaki anjiyogenez belirteçlerinin ekspresyonlarını belirlemek için 48 hastadan diş eti örneği toplayıp histolojik olarak incelemişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre, periimplantitisten etkilenen mukozanın,

sağlıklı mukoza ve periimplant mukozitis ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha yüksek seviyelerde VEGF ekspresyonuna sahip olduğunu göstermişlerdir (Lucarini ve ark., 2019).

Literatürde, VEGF'nin periodontal hastalığın patogenezindeki rolü ile ilgili çalışmalar çelişkili sonuçlar vermiştir. VEGF ekspresyonunun arttığını bildiren çalışmalar, VEGF'nin, periodontal hastalığın erken aşamalarında enflamasyonun uzamasına katkıda bulunan vasküler geçirgenliği artırma kabiliyetine sahip olduğu sonucuna varmıştır. VEGF'nin ayrıca periodontal dokuları desteklemek dâhil çoğu dokunun gelişimi, yeniden şekillenmesi, onarımı ve rejenerasyonu için gerekli olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, VEGF'nin periodontal dokulardaki yaraların iyileşmesi ile de ilişkili olma ihtimali vardır. Bununla birlikte, periodontal hastalıkta VEGF'nin rolü hakkındaki çalışmalar, periodontal lezyonların ilerlemesini veya iyileşmesini teşvik etmede bu mediatörün ana rolünü anlamak için net bir kanıt sunamamıştır (Booth ve ark., 1998; Chapple ve ark., 2000; Oyama ve ark., 2000; Suthin ve ark., 2003). Bu tez çalışmasında, VEGF ekspresyon seviyeleri periimplant mukozitis ve periodontitis grubunda, periimplantitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Periimplantitis lezyonlarında VEGF ekspresyonunun düşük olması, zaten skarlı olan periimplant dokuların ilerlemiş periimplant hastalıklarda rejeneratif potansiyelinin azalmış olması ile ilişkili olabilir.

Anjiyogenez, oksijen sensörlerinin inhibisyonu ile uyarılır. Oksijen gerilimi, PHD'ler tarafından kontrol edilir. PHD'ler normal oksijen koşulları altında aktiftir ve HIF-1 α 'nın bozulmasına neden olur. Bununla birlikte, PHD'ler hipoksi altında etkisizdir. Bu nedenle HIF-1 α korunur ve VEGF gibi proanjiyojenik moleküllerin ekspresyonunu indükleyebilir (Fraisl ve ark., 2009). Uchida ve ark. böbreklerde, PHD inhibisyonu ile

kronik enflamasyona bağlı fibrozis'in zayıfladığını ve proenflamatuvar sitokin salınımının arttığını bulmuşlardır (Uchida ve ark., 2020). Agis ve ark. PHD inhibitörlerinin periodonsiyum hücreleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. PHD inhibitörlerinin, enflamasyon durumlarında hücre proliferasyonunu azalttığını ve periodontal fibroblastlarda VEGF üretimini arttırdığını gözlemlemişlerdir (Agis ve ark., 2012). Bu bulgulara benzer şekilde Asikainen ve ark. PHD inhibitörlerinin osteoblastlarda, osteoklastlarda, endotel hücrelerinde ve in vitro epitel hücrelerinde VEGF ekspresyonunu arttırdığını göstermişlerdir (Asikainen ve ark., 2005). Periodontal dokularda bakteri ve lipopolisakkaritlerin varlığı, Toll benzeri reseptörler aracılığıyla doğrudan HIF-1 α 'yı indükler ve normal oksijen koşulları altında bile hipoksik değişikliklere neden olur. Bu durumlarda HIF-1 α 'nın inhibisyonu iltihabı iyileştirir (Gölz ve ark., 2015; Hirai ve ark., 2018; Kim ve ark., 2012; Li ve ark., 2012; Mendes ve ark., 2018). Watanabe ve ark. PHD'nin, HIF-1 α aktivitesinin baskılanmasında ve doku homeostazının yeniden kazanılmasında büyük öneme sahip olduğunu göstermişlerdir (Watanabe ve ark., 2013b). Bu tez çalışmasındaki bulgulara benzer şekilde, Afacan ve ark. ile de Araujo ve arkadaşları'nın bulduğu sonuçlar; HIF-1 α seviyelerinin periodontitis, periimplant mukozitis ve periimplantitis hastalarında arttığını göstermiştir ve bu da enflamatuvar durum ile bir ilişkiye işaret etmektedir (Afacan ve ark., 2019; De Araújo ve ark., 2017). Bununla birlikte bu çalışmada, HIF-1 α inhibitörü olan PHD, periimplantitis grubunda, periimplant mukozitis ve periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Bu durum HIF-1 α ekspresyonunun inhibisyonu ile ilişkili olabilir.

Periodontitiste, HIF-1 α , gingival fibroblastlarda yüksek oranda eksprese edilir ve periodontal enflamasyonu teşvik eden enflamatuvar faktör transkripsiyonunu artırır

(Watanabe ve ark., 2013b). Literatürdeki çalışmalara göre, hipoksiye ek olarak birkaç hipoksik olmayan uyarıların da HIF-1 α ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (Gorlach ve ark., 2001). Proenflamatuvar sitokinler dış eti fibroblastlarında HIF-1 α ekspresyonunu indükleyebilir (Thornton ve ark., 2000). Özellikle, mRNA'sı ve proteini iltihaplı dokuda önemli ölçüde artmış olan TGF- β 1, HIF-1 α 'yı stabilize edebilir, bu da fibroblastları, MMP'leri serbest bırakmak için uyabilir ve doku tahribatına neden olabilir (Ahn ve ark., 2008; McMahon ve ark., 2006b).

Hem Smad 3 hem de yakından ilişkili homoloğu Smad 2, nükleer transkripsiyon aktivatörleri olarak işlev gören TGF- β fonksiyonunun hücre içi mediatörleridir (Derynck ve ark., 1998; Massagué, 1998). Smad 2 ve Smad 3, her biri kutanöz yara iyileşmesinde çok önemli olan hücresel proliferasyonda, farklılaşmada ve yer değiştirmede önemli bir faktör olarak gösterilen TGF- β s 1, 2, 3 ve aktivinden gelen hücre içi sinyalleme aracılığı eder (Roberts, 1995).

TGF- β 1/Smad 3 sinyali HIF-1 α ekspresyonunu ve/veya protein stabilitesini düzenleyebildiğinden, bu yolağın bloke edilmesi doku enflamasyonunun HIF-1 α aracılığı alevlenmesini azaltabilir. Ashcroft ve ark. TGF- β 'dan sinyalleri ileten Smad 3'ten yoksun fareleri incelemişlerdir, vahşi tip farelere kıyasla hızlandırılmış kutanöz ve palatal yara iyileşmesinin olduğunu gözlemlemişlerdir (Ashcroft ve ark., 1999). Watanabe ve ark. TGF- β 1'in, Smad 3 sinyallemesini etkinleştirdiğini ve normal oksijen koşulları altında HIF-1 α stabilizasyonuna katkıda bulunduğunu göstermişlerdir (Watanabe ve ark., 2013b). Bu bulguların aksine, Yamazaki ve ark. HIF-1 α 'nın Smad 3'ün fosforilasyonunu etkilemediğini bildirmişlerdir (Yamazaki ve ark., 2017). Smad 3 geninin RNA ile hedeflenmesi ayrıca yara iyileşmesini hızlandırır ve palatal mukoperiosteal yaralarda yara kontraksiyonunu engeller (Yoneda ve ark., 2013). Bu tez çalışmasında,

immünohistokimyasal bulgulara göre, Smad 3 ekspresyon seviyelerinde, sağlıklı grup diğer gruplara göre daha düşük değerlere sahip bulunmuştur. Periodontitis grubu ise periimplantitis grubuna göre daha düşük değerlerde bulunmuştur. PZR bulgularında ise Smad 3 ekspresyon seviyeleri, periimplantitis grubunda diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Bu tez çalışmasında literatürle uyumlu olarak enflamasyonun şiddetiyle artan Smad 3 ekspresyon seviyeleri, HIF-1 α 'nın periodontal ve periimplant dokularda birikmesine neden olmuş olabilir.

Periodontitiste, üç temel olay periodontal ataçman kaybının başlaması ve ilerlemesi ile ilişkilidir. Bunlar arasında lokal epitel hücre proliferasyonu ve göçü, sharpey liflerinin bağlanma kaybı ile çözünmesi ve nihayetinde alveol kemiğin rezorpsiyonu bulunur (Birkedal-Hansen ve Prospects, 1998). Epitel hücre proliferasyonunun ve göçünün indüksiyonunun hastalığın erken dönemlerinde başladığı ve nihayetinde hastalık ilerledikçe periodontal cebi kaplamasıyla sonuçlandığı bilinmektedir (Birkedal-Hansen ve Prospects, 1998; Page ve Schroeder, 1976). Bu sürecin düzenlenmesi ve hastalığa katkısı tam olarak anlaşılamamıştır, ancak sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin yerel ekspresyonu muhtemelen önemli roller oynamaktadır (Kornman ve ark., 1997; Okada ve Murakami, 1998). İnterlökin-1 α , interlökin-1 β , interlökin-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin in vitro olarak gingival fibroblastlarda FGF-7 proteinini ve gen ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (Grøn ve ark., 2002; Sanaie ve ark., 2002; William Mckeown ve ark., 2003). Finch ve ark. FGF-7'nin normal epidermal homeostazı düzenlediğini göstermişlerdir (Finch ve ark., 1989). Literatürde FGF-7 ekspresyonunun yara iyileşmesi sırasında ve crohn hastalığı, ülseratif kolit ve sedef hastalığı gibi çeşitli kronik enflamatuvar durumlarda önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (Brauchle ve ark., 1996; Finch ve ark., 1997; Finch ve ark., 1996; Guo ve

ark., 1993; Werner ve ark., 1992). FGF-7, mezenkimal hücreler tarafından eksprese edilen ve özellikle epitel hücrelerini uyaran bir parakrin mediatör olarak tanımlanmaktadır (Finch ve ark., 1989; Rubin ve ark., 1989). FGF-7'nin diş etinden ve PDL'den izole edilen fibroblastlar tarafından eksprese edildiği bildirilmiştir (Dabelsteen ve ark., 1997; Gao ve ark., 1996; Grøn ve ark., 2002; Ohshima ve ark., 2002; Sanaie ve ark., 2002; William Mckeown ve ark., 2003). Putnins ve ark. *escherichia coli* ve *porphyromonas gingivalis*'ten saflaştırılan lipopolisakkaridin, Toll benzeri bir reseptör sinyal yolu yoluyla FGF-7 proteinini ve gen ekspresyonunu indüklediğini tespit etmişlerdir (Putnins ve ark., 2002). Singer ve ark. FGF-7 ve -10'a bağlanan fibroblast büyüme faktörü reseptörü-2IIIB'nin fonksiyonuna müdahale sonucunda, yara onarımının etkilendiğini göstermişlerdir (Singer ve Clark, 1999). Bu bulguların aksine, Peng ve ark. FGF-7 eksikliğinin, diyabetik farelerde kutanöz yaraların reepitelizasyonunu etkilemediğini göstermişlerdir (Peng ve ark., 2011). Li ve ark. sağlıklı diş eti dokuları ile periodontitis ile ilişkili diş eti dokularındaki FGF-7 ekspresyon seviyelerini incelemişlerdir. Periodontitis ile ilişkili diş eti epitelinde artmış FGF-7 ve FGF-7 reseptörü ekspresyonunu bildirmişlerdir ve bu da periodontal ceplerin oluşumundaki rollerini düşündürmüştür (Li ve ark., 2005). Bu tez çalışmasında hem histolojik hem PZR analizlerinde, istatistiksel olarak FGF-7 değerlerinde sağlıklı grup, tüm diğer gruplardan daha düşük değerlere sahip bulunmuştur. PZR analizlerinde ayrıca periimplantitis grubu, periimplant mukozitis ve periodontitis gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bu bulgular, FGF-7 ekspresyonunda önemli bir artışın periodontal ataçman kaybının ilerlemesi sırasında birleşim epiteli ve sulkuler epitelin proliferasyonunu, yer değiştirmesini ve invazyonunu düzenleyebileceğini düşündürülebilir.

FOXO4; FOXO1, FOXO3 ve FOXO6'yı da içeren forkhead box transkripsiyon faktörü O alt ailesinin bir üyesidir. FOXO proteinleri, bağışıklık tepkisinin düzenlenmesi dâhil olmak üzere çeşitli hücresel işlevlerde rol oynar (Burgering, 2008; Dengler ve ark., 2008; Lin ve ark., 2004; Liu ve ark., 2005; Paik ve ark., 2007). Literatürde FOXO'lar üzerinde yapılan çalışmalar, bu transkripsiyon faktör ailesinin hücresel hayatta kalma, oksidatif stres tepkisi ve karsinogeneze doğrudan bir rolü olduğunu göstermiştir. Lam ve ark. FOXO4'ü çeşitli temel kanser türlerinin düzenlenmesinde yer alan çok önemli bir transkripsiyon faktörü olarak kapsamlı bir şekilde tanımlamışlardır (Lam ve ark., 2013). Huang ve ark. ise FOXO4 genindeki düzensizliğin karsinogeneze yol açabildiğini göstermişlerdir (Huang ve Tindall, 2007). Bu bulgulara benzer şekilde, Jiang ve ark. oksidatif stres altında, FOXO4 aktivitelerinin hücre ölümünü önlemek için arttığını veya hücre apoptozunu teşvik etmek için baskılandığını bildirmişlerdir (Jiang ve ark., 2018). Tang ve ark. FOXO4'ün HIF-1 α 'nın transkripsiyonel aktivitesini bloke ettiğini göstermişlerdir (Tang ve Lasky, 2003). Jiang ve ark. ayrıca, FOXO4'ün, hücre döngüsü ilerlemesini askıya almaya ve metastazı önlemeye ek olarak, muhtemelen anjiyogenezin olumsuz düzenlenmesinde de rolü olduğunu göstermişlerdir. Anjiyogenezdeki bu inhibe edici etki VEGF, eritropoietin ve Glukoz transporter-1 transkripsiyonunun hipoksi ile aktivasyonunun inhibisyonundan kaynaklanır, çünkü tüm bu genler genel olarak HIF-1 α tarafından düzenlenir ve anjiyogenez için kritiktir (Jiang ve ark., 2018). Wang ve ark. *porphyromonas gingivalis* enfeksiyonunun, gingival epitel hücrelerinde FOXO-1, 3 ve 4'ün defosforilasyonunu ve aktivasyonunu indüklediğini göstermişlerdir (Wang ve ark., 2015). Bu tez çalışmasında, FOXO4 ekspresyon seviyesinde; sağlıklı grup ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Bu bulgular, Wang ve arkadaşlarının bulgularını destekler niteliktedir. Ayrıca periimplant mukozitis grubu

diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Periimplantitis ve periodontitis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Hasta seçiminde yaş aralığı olarak 18-50 yaş arasındaki bireyler çalışmaya dâhil edilmiştir. Philips ve ark. artan yaş ile birlikte bireylerde, yara iyileşme hızında ve enflamatuvar cevaplarda farklılıklar oluşabildiğini göstermişlerdir (Phillips, 2000). Enflamasyon, erken yara iyileşmesinin en kritik yönüdür ve enflamasyonun yaşlanmayla arttığı gösterilmiştir (Chung ve ark., 2011; Doles ve ark., 2012). Yaşlanmanın fibroblastlardan enflamatuvar mediatörlerin salınmasını teşvik ettiği bilinmektedir ve uzun süreli enflamatuvar faz yara iyileşmesini geciktirebilir (Arancibia ve ark., 2013; Benatti ve ark., 2009; Kumar ve ark., 1992). Renvert ve ark. periodontitis prevalansının yaşlanmayla birlikte arttığını göstermişlerdir ve bu durum periimplantitis riskini arttıracaktır (Renvert ve ark., 2013). Bu bulgulara benzer şekilde Meijer ve ark. ağızda artan fonksiyon süresi ile periimplant mukozitis ve periimplantitis insidansının artabileceğini bildirmişlerdir (Meijer ve ark., 2014). Bu bulguların aksine, De Baat ve ark. bunun yaşlanmanın bağışıklık sistemi ve iyileşme üzerindeki etkisinden mi yoksa, maruz kalma süresinden mi kaynaklandığının net olarak bilinmediğini bildirmişlerdir (De Baat, 2000). Bu tez çalışmasında gruplar arasındaki yaş istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, sağlıklı grup diğer gruplardan daha düşük bulunmuştur. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık görülmemiştir. Periodontitis, periimplant mukozitis ve periimplantitis hastalarının yaş değerlerinin sağlıklı gruba göre yüksek olması literatürde yaşlanmayla ilgili yapılmış çalışmalarla uyumludur.

PZR; diş eti dokusu örneklerinde, genetik polimorfizmleri ve mRNA gen ekspresyonunu göstermek için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Garlet ve ark., 2006;

Jervøe-Storm ve ark., 2005). PZR haricinde, ELISA testi, enzim testleri kullanılabilir (Van Winkelhoff, 2003). PZR yönteminin diğer yöntemlere göre hızlı ve basit olması en belirgin avantajlarıdır (Morikawa ve ark., 2008). Bununla birlikte kantitatif bir değer vermemesi ve pahalı olması PZR yönteminin dezavantajlarından (Van Winkelhoff, 2003). Bu çalışmada diş eti doku örnekleri *SYBR® Green 1-Step* PZR kiti kullanılarak incelenmiştir. *SYBR® Green 1-Step* PZR kiti primer tasarımı ve saflaştırılması, herhangi bir yan reaksiyon ürününün etkisini en aza indirerek daha güvenilir sonuç vermesi açısından avantaj sağlamaktadır (Xu ve ark., 2008).

Bu tez çalışması; PZR analizi ile FGF-7, Smad 3, HIF-1 α , VEGF, FOXO4 ve PHD gen ekspresyonları ve immünohistokimyasal boyama yöntemi ile de FGF-7 ve Smad 3 protein seviyeleri bakımından hastalıklı ve sağlıklı, gingival ve periimplant mukozal bağ dokuları karşılaştırmıştır. Farklı parametre ve analiz yöntemleri ile implant ve diş çevresi yumuşak dokuların iyileşme potansiyellerinin belirlenmesi, bulguların desteklenmesinde ve yeni bakış açıları kazanılmasında faydalı olacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Literatürde periimplant doku hastalıkları ile periodontal hastalıkların karşılaştırıldığı sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu tez çalışmasında, hastalıklı ve sağlıklı implant çevresi diş eti bağ dokularındaki iyileşme biyobelirteçlerini karşılaştırarak implant ve diş çevresi yumuşak dokular arasındaki benzerlikleri ve farklılıkları araştırdık.

1. FGF-7 ve Smad 3'ün immünohistokimya bulgularında, sağlıklı grup diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ayrıca, Smad 3 değerleri periodontitis grubunda, periimplantitis grubuna göre daha düşük değerlerde bulunmuştur.

2. Yapılan PZR analizleri sonucunda FGF-7 ekspresyon seviyesinde; sağlıklı grup diğer tüm gruplardan anlamlı oranda düşük bulunmuştur. Ayrıca periimplantitis grubu, periimplant mukozitis ve periodontitis gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur.

3. Yapılan PZR analizleri sonucunda Smad 3 ekspresyon seviyesinde; periimplantitis grubu diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur.

4. Yapılan PZR analizleri sonucunda HIF-1 α ekspresyon seviyesinde; periimplantitis ve periimplant mukozitis grupları, sağlıklı ve periodontitis gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur.

5. Yapılan PZR analizleri sonucunda VEGF ekspresyon seviyesinde; sağlıklı grup diğer tüm gruplardan anlamlı oranda düşük bulunmuştur. Ayrıca periimplant mukozitis ve periodontitis grubu periimplantitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur.

6. Yapılan PZR analizleri sonucunda PHD ekspresyon seviyesinde; sağlıklı grup diğer tüm gruplardan anlamlı oranda düşük bulunmuştur. Periimplantitis grubu, periimplant mukozitis ve periodontitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur.

7. Yapılan PZR analizleri sonucunda FOXO4 ekspresyon seviyesinde; sağlıklı grup diğer tüm gruplardan anlamlı oranda düşük bulunmuştur. Ayrıca periimplant mukozitis grubu diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur.

Bu sonuçlara dayanarak implant çevresi hastalıklı diş etinin, diş çevresi dokularla karşılaştırıldığında gerek periodontal hastalık gerekse cerrahi müdahale sonrasında bağ doku kompozisyonundaki değişiklikler nedeniyle yara iyileşmesi ve oksijenlenme açısından daha dezavantajlı olabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Adibrad, M., Shahabuei, M., & Sahabi, M. (2009). Significance of the width of keratinized mucosa on the health status of the supporting tissue around implants supporting overdentures. *J Oral Implantol*, 35(5), 232-237.
- Afacan, B., Öztürk, V. Ö., Paşalı, Ç., Bozkurt, E., Köse, T., & Emingil, G. J. J. o. p. (2019). Gingival crevicular fluid and salivary HIF-1 α , VEGF, and TNF- α levels in periodontal health and disease. 90(7), 788-797.
- Aghaloo, T., Pi-Anfruns, J., Moshaverinia, A., Sim, D., Grogan, T., & Hadaya, D. (2019). The Effects of Systemic Diseases and Medications on Implant Osseointegration: A Systematic Review. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 34, s35-s49.
- Agis, H., Watzek, G., & Gruber, R. (2012). Prolyl hydroxylase inhibitors increase the production of vascular endothelial growth factor by periodontal fibroblasts. *J. Periodontal Res.*, 47(2), 165-173.
- Ahn, J., Koh, E.-M., Cha, H.-S., Lee, Y., Kim, J., Bae, E.-K., & Ahn, K.-S. J. R. (2008). Role of hypoxia-inducible factor-1 α in hypoxia-induced expressions of IL-8, MMP-1 and MMP-3 in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. 47(6), 834-839.
- Ainamo, A., Ainamo, J., & Poikkeus, R. (1981). Continuous widening of the band of attached gingiva from 23 to 65 years of age. *J. Periodontal Res.*, 16(6), 595-599.
- Ainamo, J., & Talari, A. (1976). The increase with age of the width of attached gingiva. *J. Periodontal Res.*, 11(4), 182-188.
- Albiero, M., Menegazzo, L., Boscaro, E., Agostini, C., Avogaro, A., & Fadini, G. J. D. (2011). Defective recruitment, survival and proliferation of bone marrow-derived progenitor cells at sites of delayed diabetic wound healing in mice. 54(4), 945-953.

- Albrektsson, T. (1985). *Consensus report of session IV*. Paper presented at the Proceeding of the 1st European Workshop on Periodontology.
- Albrektsson, T., Branemark, P. I., Hansson, H. A., & Lindstrom, J. (1981). Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop. Scand.*, 52(2), 155-170.
- Albrektsson, T., Buser, D., & Sennerby, L. (2012). Crestal bone loss and oral implants. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.*, 14(6), 783-791.
- Albrektsson, T., Dahlin, C., Jemt, T., Sennerby, L., Turri, A., & Wennerberg, A. (2014). Is marginal bone loss around oral implants the result of a provoked foreign body reaction? *Clinical implant dentistry and related research*, 16(2), 155-165.
- Albrektsson, T., & Sennerby, L. (1991). State of the art in oral implants. *J. Clin. Periodontol.*, 18(6), 474-481.
- Albrektsson, T., Zarb, G., Worthington, P., & Eriksson, A. (1986). The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int j oral maxillofac implants*, 1(1), 11-25.
- Albrektsson, T., & Zarb, G. A. (1993). Current interpretations of the osseointegrated response: clinical significance. *Int. J. Prosthodont.*, 6(2), 95-105.
- Andreiotelli, M., Koutayas, S.-O., Madianos, P. N., & Strub, J.-R. (2008). Relationship between interleukin-1 genotype and peri-implantitis: a literature review. *Quintessence international*, 289.
- Anitua, E., Troya, M., & Orive, G. (2012). Plasma rich in growth factors promote gingival tissue regeneration by stimulating fibroblast proliferation and migration and by blocking transforming growth factor- β 1-induced myodifferentiation. *Journal of periodontology*, 83(8), 1028-1037.

- Arancibia, R., Oyarzún, A., Silva, D., Tobar, N., Martínez, J., & Smith, P. C. J. J. o. p. (2013). Tumor necrosis factor- α inhibits transforming growth factor- β –stimulated myofibroblastic differentiation and extracellular matrix production in human gingival fibroblasts. *84*(5), 683-693.
- Araujo, M. G., & Lindhe, J. (2018). Peri-implant health. *Journal of periodontology*, *89*, S249-S256.
- Arıkan, F., Buduneli, N., & Kütükçüler, N. (2008). Osteoprotegerin levels in peri-implant crevicular fluid. *Clinical oral implants research*, *19*(3), 283-288.
- Armitage, G. C., Svanberg, G. K., & Loe, H. (1977). Microscopic evaluation of clinical measurements of connective tissue attachment levels. *J. Clin. Periodontol.*, *4*(3), 173-190.
- Arnim, S. S., & Hagerman, D. A. (1953). The connective tissue fibers of the marginal gingiva. *J. Am. Dent. Assoc.*, *47*(3), 271-281.
- Ashcroft, G. S., Yang, X., Glick, A. B., Weinstein, M., Letterio, J. J., Mizel, D. E., . . . Deng, C. (1999). Mice lacking Smad3 show accelerated wound healing and an impaired local inflammatory response. *Nature cell biology*, *1*(5), 260-266.
- Asikainen, T. M., Ahmad, A., Schneider, B. K., Ho, W.-B., Arend, M., Brenner, M., . . . Medicine. (2005). Stimulation of HIF-1 α , HIF-2 α , and VEGF by prolyl 4-hydroxylase inhibition in human lung endothelial and epithelial cells. *38*(8), 1002-1013.
- Atila, G., & Baylas, H. J. J. o. M. U. D. F. (1996). Electron probe analysis of cementum surfaces. *2*(2-3), 510-514.

- Atsuta, I., Ayukawa, Y., Furuhashi, A., Yamaza, T., Tsukiyama, Y., & Koyano, K. (2013). Promotive effect of insulin-like growth factor-1 for epithelial sealing to titanium implants. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 101(10), 2896-2904.
- Atsuta, I., Ayukawa, Y., Kondo, R., Oshiro, W., Matsuura, Y., Furuhashi, A., . . . Koyano, K. (2016). Soft tissue sealing around dental implants based on histological interpretation. *J Prosthodont Res*, 60(1), 3-11.
- Atsuta, I., Yamaza, T., Yoshinari, M., Goto, T., Kido, M. A., Kagiya, T., . . . Tanaka, T. (2005). Ultrastructural localization of laminin-5 ($\gamma 2$ chain) in the rat peri-implant oral mucosa around a titanium-dental implant by immuno-electron microscopy. *Biomaterials*, 26(32), 6280-6287.
- Atsuta, I., Yamaza, T., Yoshinari, M., Mino, S., Goto, T., Kido, M. A., . . . Tanaka, T. (2005). Changes in the distribution of laminin-5 during peri-implant epithelium formation after immediate titanium implantation in rats. *Biomaterials*, 26(14), 1751-1760.
- Ayasaka, N., & Tanaka, T. (1989). A cytochemical study of horseradish peroxidase uptake in rat junctional epithelium. *J. Dent. Res.*, 68(11), 1503-1507.
- Balci Yuce, H., Karatas, O., Tulu, F., Altan, A., & Gevrek, F. (2019). Effect of diabetes on collagen metabolism and hypoxia in human gingival tissue: a stereological, histopathological, and immunohistochemical study. *Biotech. Histochem.*, 94(1), 65-73.
- Bartold, P., & Walsh, L. (2000). Narayanan AS (2000) Molecular and cell biology of gingiva. *Periodontol*, 24, 28-55.
- Bartold, P. M., Walsh, L. J., & Narayanan, A. S. (2000). Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol. 2000*, 24(1), 28-55.

- Bassetti, M., Schar, D., Wicki, B., Eick, S., Ramseier, C. A., Arweiler, N. B., . . . Salvi, G. E. (2014). Anti-infective therapy of peri-implantitis with adjunctive local drug delivery or photodynamic therapy: 12-month outcomes of a randomized controlled clinical trial. *Clin. Oral Implants Res.*, 25(3), 279-287.
- Becker, J., Schuppan, D., Rabanus, J. P., Rauch, R., Niechoy, U., & Gelderblom, H. R. (1991). Immunoelectron microscopic localization of collagens type I, V, VI and of procollagen type III in human periodontal ligament and cementum. *J. Histochem. Cytochem.*, 39(1), 103-110.
- Becker, W., & Goldstein, M. (2008). Immediate implant placement: treatment planning and surgical steps for successful outcome. *Periodontol. 2000*, 47(1), 79-89.
- Beertsen, W., McCulloch, C. A., & Sodek, J. (1997). The periodontal ligament: a unique, multifunctional connective tissue. *Periodontol. 2000*, 13(1), 20-40.
- Benatti, B. B., Silverio, K. G., Casati, M. Z., Sallum, E. A., & Nociti, F. H., Jr. (2009). Inflammatory and bone-related genes are modulated by aging in human periodontal ligament cells. *Cytokine*, 46(2), 176-181.
- Berglundh, T., Armitage, G., Araujo, M. G., Avila-Ortiz, G., Blanco, J., Camargo, P. M., . . . Figuero, E. (2018a). Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89, S313-S318.
- Berglundh, T., Armitage, G., Araujo, M. G., Avila-Ortiz, G., Blanco, J., Camargo, P. M., . . . Figuero, E. J. J. o. p. (2018b). Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. 89, S313-S318.

- Berglundh, T., Gislason, O., Lekholm, U., Sennerby, L., & Lindhe, J. (2004). Histopathological observations of human periimplantitis lesions. *J. Clin. Periodontol.*, 31(5), 341-347.
- Berglundh, T., & Lindhe, J. (1996). Dimension of the periimplant mucosa. Biological width revisited. *J. Clin. Periodontol.*, 23(10), 971-973.
- Berglundh, T., Lindhe, J., Ericsson, I., Marinello, C., Liljenberg, B., & Thornsen, P. (1991). The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clinical oral implants research*, 2(2), 81-90.
- Berglundh, T., Lindhe, J., Jonsson, K., & Ericsson, I. (1994). The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *J. Clin. Periodontol.*, 21(3), 189-193.
- Berglundh, T., Lindhe, J., Marinello, C., Ericsson, I., & Liljenberg, B. (1992). Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clin. Oral Implants Res.*, 3(1), 1-8.
- Berglundh, T., Zitzmann, N. U., & Donati, M. (2011). Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? *J. Clin. Periodontol.*, 38 Suppl 11, 188-202.
- Birkedal-Hansen, H. (1988). From tadpole collagenase to a family of matrix metalloproteinases. *J. Oral Pathol.*, 17(9-10), 445-451.
- Birkedal-Hansen, H., Cobb, C. M., Taylor, R. E., & Fullmer, H. M. (1976). Synthesis and release of procollagenase by cultured fibroblasts. *J. Biol. Chem.*, 251(10), 3162-3168.
- Birkedal-Hansen, H., Taylor, R. E., Bhowan, A. S., Katz, J., Lin, H. Y., & Wells, B. R. (1985). Cleavage of bovine skin type III collagen by proteolytic enzymes. Relative resistance of the fibrillar form. *J. Biol. Chem.*, 260(30), 16411-16417.

- Birkedal-Hansen, H. J. O. B. a. t. T. o. t. C. M., Truths, Challenges, & Prospects. (1998). Links between microbial colonization, inflammatory response and tissue destruction. 170-178.
- Birkedal-Hansen, H. (1993). Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *Journal of periodontology*, 64, 474-484.
- Bonte, B., & van Steenberghe, D. (1991). Masseteric post-stimulus EMG complex following mechanical stimulation of osseointegrated oral implants. *J. Oral Rehabil.*, 18(3), 221-229.
- Booth, V., Young, S., Cruchley, A., Taichman, N. S., & Paleolog, E. (1998). Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *J. Periodontal Res.*, 33(8), 491-499.
- Bormann, K. H., Stuhmer, C., Z'Graggen, M., Kokemoller, H., Rucker, M., & Gellrich, N. C. (2010). IL-1 polymorphism and periimplantitis. A literature review. *Schweiz. Monatsschr. Zahnmed.*, 120(6), 510-520.
- Bosshardt, D. D., Zalzal, S., McKee, M. D., & Nanci, A. (1998). Developmental appearance and distribution of bone sialoprotein and osteopontin in human and rat cementum. *Anat. Rec.*, 250(1), 13-33.
- Boynueğri, D., Nemli, S. K., & Kasko, Y. A. (2013). Significance of keratinized mucosa around dental implants: a prospective comparative study. *Clinical oral implants research*, 24(8), 928-933.
- Brancato, S. K., & Albina, J. E. (2011). Wound macrophages as key regulators of repair: origin, phenotype, and function. *The American journal of pathology*, 178(1), 19-25.

- Brauchle, M., Madlener, M., Wagner, A. D., Angermeyer, K., Lauer, U., Hofschneider, P. H., . . . Werner, S. J. T. A. j. o. p. (1996). Keratinocyte growth factor is highly overexpressed in inflammatory bowel disease. *149*(2), 521.
- Brecx, M. C., Gautschi, M., Gehr, P., & Lang, N. P. (1987). Variability of histologic criteria in clinically healthy human gingiva. *J. Periodontal Res.*, *22*(6), 468-472.
- Broggini, N., Mcmanus, L. M., Hermann, J., Medina, R., Oates, T., Schenk, R., . . . Cochran, D. L. (2003). Persistent acute inflammation at the implant-abutment interface. *Journal of dental research*, *82*(3), 232-237.
- Broggini, N., McManus, L. M., Hermann, J. S., Medina, R., Schenk, R. K., Buser, D., & Cochran, D. L. (2006). Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J. Dent. Res.*, *85*(5), 473-478.
- Brown, R. L., Ormsby, I., Doetschman, T. C., & Greenhalgh, D. G. (1995). Wound healing in the transforming growth factor- β 1—deficient mouse. *Wound Repair and Regeneration*, *3*(1), 25-36.
- Bumann, A., Carvalho, R. S., Schwarzer, C. L., & Yen, E. H. (1997). Collagen synthesis from human PDL cells following orthodontic tooth movement. *Eur. J. Orthod.*, *19*(1), 29-37.
- Burgering, B. M. (2008). A brief introduction to FOXOlogy. *Oncogene*, *27*(16), 2258-2262.
- Buser, D., & Bragger, U. (1989). [Two-part ITI-hollow cylinder and hollow screw implant]. *Phillip J.*, *6*(5), 263-274.
- Buser, D., Weber, H. P., Donath, K., Fiorellini, J. P., Paquette, D. W., & Williams, R. C. (1992). Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. *J. Periodontol.*, *63*(3), 225-235.

- Cacan, E., Ali, M. W., Boyd, N. H., Hooks, S. B., & Greer, S. F. (2014). Inhibition of HDAC1 and DNMT1 modulate RGS10 expression and decrease ovarian cancer chemoresistance. *PLoS One*, 9(1), e87455.
- Callaghan, M. M., Lovis, R. M., Rammohan, C., Lu, Y., & Pope, R. M. (1996). Autocrine regulation of collagenase gene expression by TNF-alpha in U937 cells. *J. Leukoc. Biol.*, 59(1), 125-132.
- Carcuac, O., Abrahamsson, I., Albouy, J. P., Linder, E., Larsson, L., & Berglundh, T. (2013). Experimental periodontitis and peri-implantitis in dogs. *Clin. Oral Implants Res.*, 24(4), 363-371.
- Carmichael, R. P., McCulloch, C. A., & Zarb, G. A. (1991). Quantitative immunohistochemical analysis of keratins and desmoplakins in human gingiva and peri-implant mucosa. *J. Dent. Res.*, 70(5), 899-905.
- Carranza, F., & Newman, M. (1996). Clinical Periodontology. New York. In: WB Saunders.
- Carter, K. (2003). Growth factors: the wound healing therapy of the future. *Br. J. Community Nurs.*, 8(9), S15-16, S18-19, S22-13.
- Casado, P. L., Canullo, L., de Almeida Filardy, A., Granjeiro, J. M., Barboza, E. P., & Duarte, M. E. L. (2013). Interleukins 1 β and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease. *Implant dentistry*, 22(2), 143-150.
- Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L., Jepsen, S., Kornman, K. S., . . . Tonetti, M. S. J. J. o. p. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. 89, S1-S8.

- Cecchinato, D., Bressan, E. A., Toia, M., Araujo, M. G., Liljenberg, B., & Lindhe, J. (2012). Osseointegration in periodontitis susceptible individuals. *Clin. Oral Implants Res.*, 23(1), 1-4.
- Cetinkaya, B. O., Keles, G. C., Ayas, B., Sakallioğlu, E. E., & Acikgoz, G. J. J. o. p. (2007). The expression of vascular endothelial growth factor in a rat model at destruction and healing stages of periodontal disease. 78(6), 1129-1135.
- Chang, M., & Wennstrom, J. L. (2013). Soft tissue topography and dimensions lateral to single implant-supported restorations. a cross-sectional study. *Clin. Oral Implants Res.*, 24(5), 556-562.
- Chang, M., Wennstrom, J. L., Odman, P., & Andersson, B. (1999). Implant supported single-tooth replacements compared to contralateral natural teeth. Crown and soft tissue dimensions. *Clin. Oral Implants Res.*, 10(3), 185-194.
- Chapple, C. C., Kumar, R. K., & Hunter, N. (2000). Vascular remodelling in chronic inflammatory periodontal disease. *J. Oral Pathol. Med.*, 29(10), 500-506.
- Charyeva, O., Altynbekov, K., Zhartybaev, R., & Sabdanaliev, A. (2012). Long-term dental implant success and survival--a clinical study after an observation period up to 6 years. *Swed. Dent. J.*, 36(1), 1-6.
- Cho, M. I., & Garant, P. R. (2000). Development and general structure of the periodontium. *Periodontol.* 2000, 24(1), 9-27.
- Choquet, V., Hermans, M., Adriaenssens, P., Daelemans, P., Tarnow, D. P., & Malevez, C. (2001). Clinical and radiographic evaluation of the papilla level adjacent to single-tooth dental implants. A retrospective study in the maxillary anterior region. *J. Periodontol.*, 72(10), 1364-1371.

- Chow, Y. C., & Wang, H. L. (2010). Factors and techniques influencing peri-implant papillae. *Implant Dent.*, 19(3), 208-219.
- Chung, D. M., Oh, T. J., Shotwell, J. L., Misch, C. E., & Wang, H. L. (2006). Significance of keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces. *J. Periodontol.*, 77(8), 1410-1420.
- Chung, H., Lee, E., Choi, Y., Kim, J., Kim, D., Zou, Y., . . . Kim, N. J. J. o. d. r. (2011). Molecular inflammation as an underlying mechanism of the aging process and age-related diseases. *90*(7), 830-840.
- Ciancio, S. G., Lauciello, F., Shibly, O., Vitello, M., & Mather, M. (1995). The effect of an antiseptic mouthrinse on implant maintenance: plaque and peri-implant gingival tissues. *J. Periodontol.*, 66(11), 962-965.
- Claffey, N., Clarke, E., Polyzois, I., & Renvert, S. (2008). Surgical treatment of peri-implantitis. *J. Clin. Periodontol.*, 35(8 Suppl), 316-332.
- Clausen, H., Moe, D., Buschard, K., & Dabelsteen, E. (1986). Keratin proteins in human oral mucosa. *J. Oral Pathol.*, 15(1), 36-42.
- Cleaton-Jones, P., Buskin, S. A., & Volchansky, A. (1978). Surface ultrastructure of human gingiva. *J. Periodontal Res.*, 13(4), 367-371.
- Cochran, D. L., Hermann, J. S., Schenk, R. K., Higginbottom, F. L., & Buser, D. (1997). Biologic width around titanium implants. A histometric analysis of the implanto- gingival junction around unloaded and loaded nonsubmerged implants in the canine mandible. *J. Periodontol.*, 68(2), 186-198.
- Cochran, D. L., Mau, L. P., Higginbottom, F. L., Wilson, T. G., Bosshardt, D. D., Schoolfield, J., & Jones, A. A. (2013). Soft and hard tissue histologic dimensions around dental implants in the canine restored with smaller-diameter abutments: a

- paradigm shift in peri-implant biology. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 28(2), 494-502.
- Cohen, B. (1959). Morphological factors in the pathogenesis of periodontal disease. *Br Dent J*, 107(7), 31-39.
- Coli, P., Christiaens, V., Sennerby, L., & Bruyn, H. (2017). Reliability of periodontal diagnostic tools for monitoring peri-implant health and disease. *Periodontol.* 2000, 73(1), 203-217.
- Conway, E. M., Collen, D., & Carmeliet, P. (2001). Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc. Res.*, 49(3), 507-521.
- Cooke, J. W., Sarment, D. P., Whitesman, L. A., Miller, S. E., Jin, Q., Lynch, S. E., & Giannobile, W. V. (2006). Effect of rhPDGF-BB delivery on mediators of periodontal wound repair. *Tissue Eng.*, 12(6), 1441-1450.
- Costa, F. O., Takenaka-Martinez, S., Cota, L. O. M., Ferreira, S. D., Silva, G. L. M., & Costa, J. E. (2012). Peri-implant disease in subjects with and without preventive maintenance: a 5-year follow-up. *Journal of clinical periodontology*, 39(2), 173-181.
- Dabelsteen, S., Wandall, H. H., Gron, B., & Dabelsteen, E. (1997). Keratinocyte growth factor mRNA expression in periodontal ligament fibroblasts. *Eur. J. Oral Sci.*, 105(6), 593-598.
- Davies, J. E. (2003). Understanding peri-implant endosseous healing. *J. Dent. Educ.*, 67(8), 932-949.
- de Araújo, M. F., Etchebehere, R. M., de Melo, M. L. R., Beghini, M., Severino, V. O., de Castro Côbo, E., . . . Practice. (2017). Analysis of CD15, CD57 and HIF-1 α in biopsies of patients with peri-implantitis. 213(9), 1097-1101.

- de Baat, C. (2000). Success of dental implants in elderly people--a literature review. *Gerodontology*, 17(1), 45-48.
- De Bruyn, H., Vandeweghe, S., Ruyffelaert, C., Cosyn, J., & Sennerby, L. (2013). Radiographic evaluation of modern oral implants with emphasis on crestal bone level and relevance to peri-implant health. *Periodontol. 2000*, 62(1), 256-270.
- de Jong, T., Bakker, A. D., Everts, V., & Smit, T. H. (2017). The intricate anatomy of the periodontal ligament and its development: Lessons for periodontal regeneration. *J. Periodontal Res.*, 52(6), 965-974.
- de Mendonça, A. C., Santos, V. R., César-Neto, J. B., & Duarte, P. M. (2009). Tumor necrosis factor- α levels after surgical anti-infective mechanical therapy for peri-implantitis: A 12-month follow-up. *Journal of periodontology*, 80(4), 693-699.
- Degasperi, W., Andersson, P., Verrocchi, D., & Sennerby, L. (2014). One-year clinical and radiographic results with a novel hydrophilic titanium dental implant. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.*, 16(4), 511-519.
- Degidi, M., Novaes, A. B., Jr., Nardi, D., & Piattelli, A. (2008). Outcome analysis of immediately placed, immediately restored implants in the esthetic area: the clinical relevance of different interimplant distances. *J. Periodontol.*, 79(6), 1056-1061.
- Demetriou, N. A., & Ramfjord, S. P. (1972). Premitotic labeling and inflammation in the gingiva of Rhesus monkeys. *J. Periodontol.*, 43(10), 606-613.
- Dengler, H. S., Baracho, G. V., Omori, S. A., Bruckner, S., Arden, K. C., Castrillon, D. H., . . . Rickert, R. C. J. N. i. (2008). Distinct functions for the transcription factor Foxo1 at various stages of B cell differentiation. 9(12), 1388-1398.

- Derks, J., Håkansson, J., Wennström, J., Tomasi, C., Larsson, M., & Berglundh, T. (2015). Effectiveness of implant therapy analyzed in a Swedish population: early and late implant loss. *Journal of dental research*, 94(3_suppl), 44S-51S.
- Derks, J., Schaller, D., Hakansson, J., Wennstrom, J. L., Tomasi, C., & Berglundh, T. (2016). Effectiveness of Implant Therapy Analyzed in a Swedish Population: Prevalence of Peri-implantitis. *J. Dent. Res.*, 95(1), 43-49.
- Derks, J., & Tomasi, C. (2015). Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *J. Clin. Periodontol.*, 42 Suppl 16, S158-171.
- Derynck, R., Zhang, Y., & Feng, X. H. (1998). Smads: transcriptional activators of TGF-beta responses. *Cell*, 95(6), 737-740.
- Dhir, S., Mahesh, L., Kurtzman, G. M., & Vandana, K. L. (2013). Peri-implant and periodontal tissues: a review of differences and similarities. *Compend. Contin. Educ. Dent.*, 34(7), e69-75.
- Diegelmann, R. F. (2004). From the selected works of Robert F. Diegelmann Ph. D. *Front biosci*, 9, 283-289.
- Doles, J., Storer, M., Cozzuto, L., Roma, G., & Keyes, W. M. (2012). Age-associated inflammation inhibits epidermal stem cell function. *Genes Dev.*, 26(19), 2144-2153.
- Donley, T. G., & Gillette, W. B. (1991). Titanium endosseous implant-soft tissue interface: a literature review. *J. Periodontol.*, 62(2), 153-160.
- Eastoe, J. (1956). The biochemistry and physiology of bone. *edited by Bourne, GH*, 81-105.
- Egelberg, J. (1966). The blood vessels of the dento-gingival junction. *J. Periodontal Res.*, 1(3), 163-179.

- Eijkelenboom, A., & Burgering, B. M. (2013). FOXOs: signalling integrators for homeostasis maintenance. *Nature reviews Molecular cell biology*, 14(2), 83.
- Ericsson, I., Berglundh, T., Marinello, C., Liljenberg, B., & Lindhe, J. (1992). Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clinical oral implants research*, 3(3), 99-103.
- Ericsson, I., & Lindhe, J. (1993). Probing depth at implants and teeth: an experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology*, 20(9), 623-627.
- Esposito, M., Thomsen, P., Mölne, J., Gretzer, C., Ericson, L. E., & Lekholm, U. (1997). Immunohistochemistry of soft tissues surrounding late failures of Brånemark implants. *Clinical oral implants research*, 8(5), 352-366.
- Felo, A., Shibly, O., Ciancio, S. G., Lauciello, F. R., & Ho, A. (1997). Effects of subgingival chlorhexidine irrigation on peri-implant maintenance. *Am. J. Dent.*, 10(2), 107-110.
- Ferreira, S. D., Silva, G. L., Cortelli, J. R., Costa, J. E., & Costa, F. O. (2006). Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *J. Clin. Periodontol.*, 33(12), 929-935.
- Figuro, E., Graziani, F., Sanz, I., Herrera, D., & Sanz, M. (2014). Management of peri-implant mucositis and peri-implantitis. *Periodontol. 2000*, 66(1), 255-273.
- Finch, P. W., Murphy, F., Cardinale, I., & Krueger, J. G. (1997). Altered expression of keratinocyte growth factor and its receptor in psoriasis. *Am. J. Pathol.*, 151(6), 1619-1628.
- Finch, P. W., Pricolo, V., Wu, A., & Finkelstein, S. D. (1996). Increased expression of keratinocyte growth factor messenger RNA associated with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 110(2), 441-451.

- Finch, P. W., Rubin, J. S., Miki, T., Ron, D., & Aaronson, S. A. J. S. (1989). Human KGF is FGF-related with properties of a paracrine effector of epithelial cell growth. *245*(4919), 752-755.
- Fine, A., & Goldstein, R. H. (1987). The effect of transforming growth factor-beta on cell proliferation and collagen formation by lung fibroblasts. *J. Biol. Chem.*, *262*(8), 3897-3902.
- Fonseca, F. J., Moraes Junior, M., Lourenco, E. J., Teles Dde, M., & Figueredo, C. M. (2014). Cytokines expression in saliva and peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant disease. *Clin. Oral Implants Res.*, *25*(2), e68-72.
- Forsythe, J. A., Jiang, B. H., Iyer, N. V., Agani, F., Leung, S. W., Koos, R. D., & Semenza, G. L. (1996). Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol. Cell. Biol.*, *16*(9), 4604-4613.
- Fraisl, P., Aragonés, J., & Carmeliet, P. J. N. R. D. D. (2009). Inhibition of oxygen sensors as a therapeutic strategy for ischaemic and inflammatory disease. *8*(2), 139-152.
- Fujishiro, N., Anan, H., Hamachi, T., & Maeda, K. (2008). The role of macrophages in the periodontal regeneration using Emdogain® gel. *Journal of periodontal research*, *43*(2), 143-155.
- Galiano, R. D., Tepper, O. M., Pelo, C. R., Bhatt, K. A., Callaghan, M., Bastidas, N., . . . Gurtner, G. C. J. T. A. j. o. p. (2004). Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. *164*(6), 1935-1947.
- Gao, Z., Flaitz, C. M., & Mackenzie, I. C. (1996). Expression of keratinocyte growth factor in periapical lesions. *J. Dent. Res.*, *75*(9), 1658-1663.

- Garlet, G. P., Cardoso, C. R., Silva, T. A., Ferreira, B. R., Avila-Campos, M. J., Cunha, F. Q., & Silva, J. S. (2006). Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors. *Oral microbiology and immunology*, 21(1), 12-20.
- Gastaldo, J. F., Cury, P. R., & Sendyk, W. R. (2004). Effect of the vertical and horizontal distances between adjacent implants and between a tooth and an implant on the incidence of interproximal papilla. *Journal of periodontology*, 75(9), 1242-1246.
- Gibbs, S., Roffel, S., Meyer, M., & Gasser, A. (2019). Biology of soft tissue repair: gingival epithelium in wound healing and attachment to the tooth and abutment surface. *Eur Cell Mater*, 38, 63-78.
- Glimcher, M. J. (1987). The nature of the mineral component of bone and the mechanism of calcification. *Instr. Course Lect.*, 36, 49-69.
- Glimcher, M. J. (1989). Mechanism of calcification: role of collagen fibrils and collagen-phosphoprotein complexes in vitro and in vivo. *Anat. Rec.*, 224(2), 139-153.
- Glimcher, M. J., Friberg, U. A., & Levine, P. T. (1964). The Identification and Characterization of a Calcified Layer of Coronal Cementum in Erupted Bovine Teeth. *J. Ultrastruct. Res.*, 10(1-2), 76-88.
- Gómez-Moreno, G., Aguilar-Salvatierra, A., Rubio Roldán, J., Guardia, J., Gargallo, J., & Calvo-Guirado, J. L. (2015). Peri-implant evaluation in type 2 diabetes mellitus patients: a 3-year study. *Clinical oral implants research*, 26(9), 1031-1035.
- Gonzalez, F. J., Xie, C., & Jiang, C. J. N. R. E. (2019). The role of hypoxia-inducible factors in metabolic diseases. 15(1), 21-32.

- Gorlach, A., Diebold, I., Schini-Kerth, V. B., Berchner-Pfannschmidt, U., Roth, U., Brandes, R. P., . . . Busse, R. (2001). Thrombin activates the hypoxia-inducible factor-1 signaling pathway in vascular smooth muscle cells: Role of the p22(phox)-containing NADPH oxidase. *Circ. Res.*, 89(1), 47-54.
- Gould, T. R., Westbury, L., & Brunette, D. M. (1984). Ultrastructural study of the attachment of human gingiva to titanium in vivo. *J. Prosthet. Dent.*, 52(3), 418-420.
- Gölz, L., Memmert, S., Rath-Deschner, B., Jäger, A., Appel, T., Baumgarten, G., . . . Frede, S. J. M. o. i. (2015). Hypoxia and *P. gingivalis* synergistically induce HIF-1 and NF- κ B activation in PDL cells and periodontal diseases. 2015.
- Gräber, H. G., Wilharm, J., & Conrads, G. (1999). Monoclonal antibodies against integrin subunits α 6 and β 1 inhibit migration of gingival epithelium in organ culture. *Journal of periodontology*, 70(4), 388-393.
- Graves, D. T., Oates, T., & Garlet, G. P. (2011). Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *J. Oral Microbiol.*, 3(1), 5304.
- Green, R. J., Usui, M. L., Hart, C. E., Ammons, W. F., & Narayanan, A. S. (1997). Immunolocalization of platelet-derived growth factor A and B chains and PDGF- α and β receptors in human gingival wounds. *J. Periodontal Res.*, 32(2), 209-214.
- Greene, A. H. (1962). A study of the characteristics of stippling and its relation to gingival health. *The Journal of Periodontology*, 33(2), 176-182.
- Groeger, S., & Meyle, J. (2019). Oral Mucosal Epithelial Cells. *Front. Immunol.*, 10, 208.

- Groeger, S. E., & Meyle, J. (2015). Epithelial barrier and oral bacterial infection. *Periodontol. 2000*, 69(1), 46-67.
- Grøn, B., Stoltze, K., Andersson, A., & Dabelsteen, E. J. A. (2002). Oral fibroblasts produce more HGF and KGF than skin fibroblasts in response to co-culture with keratinocytes. *110*(12), 892-898.
- Grzesik, W. J., & Narayanan, A. S. (2002). Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 13(6), 474-484.
- Gualini, F., & Berglundh, T. (2003). Immunohistochemical characteristics of inflammatory lesions at implants. *Journal of clinical periodontology*, 30(1), 14-18.
- Gulati, M., Anand, V., Govila, V., & Jain, N. (2014). Host modulation therapy: An indispensable part of perioceutics. *J. Indian Soc. Periodontol.*, 18(3), 282-288.
- Guo, L., Yu, Q. C., & Fuchs, E. (1993). Targeting expression of keratinocyte growth factor to keratinocytes elicits striking changes in epithelial differentiation in transgenic mice. *EMBO J.*, 12(3), 973-986.
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314-321.
- Gutmann, J. L., & Harrison, J. W. (1991). *Surgical endodontics*: Blackwell scientific publications Boston.
- Hackam, D. J., & Ford, H. R. (2002). Cellular, biochemical, and clinical aspects of wound healing. *Surg. Infect. (Larchmt.)*, 3 Suppl 1(S1), S23-35.
- Haddad, J. J., & Harb, H. L. J. I. i. (2005). Cytokines and the regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α . *5*(3), 461-483.

- Harrison, J. W. (1991). Healing of surgical wounds in oral mucoperiosteal tissues. *J. Endod.*, 17(8), 401-408.
- Hassell, T. M. (1993). Tissues and cells of the periodontium. *Periodontol.* 2000, 3(1), 9-38.
- Heitz-Mayfield, L. J. (2008a). Diagnosis and management of peri-implant diseases. *Aust. Dent. J.*, 53 Suppl 1, S43-48.
- Heitz-Mayfield, L. J. (2008b). Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J. Clin. Periodontol.*, 35(8 Suppl), 292-304.
- Heitz-Mayfield, L. J., Salvi, G. E., Botticelli, D., Mombelli, A., Faddy, M., Lang, N. P., & Implant Complication Research, G. (2011). Anti-infective treatment of peri-implant mucositis: a randomised controlled clinical trial. *Clin. Oral Implants Res.*, 22(3), 237-241.
- Heitz-Mayfield, L. J., & Salvi, G. E. J. J. o. c. p. (2018). Peri-implant mucositis. 45, S237-S245.
- Heo, S. C., Jeon, E. S., Lee, I. H., Kim, H. S., Kim, M. B., & Kim, J. H. (2011). Tumor necrosis factor- α -activated human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells accelerate cutaneous wound healing through paracrine mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 131(7), 1559-1567.
- Hermann, F., Lerner, H., & Palti, A. (2007). Factors influencing the preservation of the periimplant marginal bone. *Implant Dent.*, 16(2), 165-175.
- Hirai, K., Furusho, H., Hirota, K., & Sasaki, H. (2018). Activation of hypoxia-inducible factor 1 attenuates periapical inflammation and bone loss. *Int J Oral Sci*, 10(2), 12.

- Hirashima, S., Kanazawa, T., Ohta, K., & Nakamura, K. I. (2020). Three-dimensional ultrastructural imaging and quantitative analysis of the periodontal ligament. *Anat Sci Int*, 95(1), 1-11.
- Hong, H. H., Uzel, M. I., Duan, C., Sheff, M. C., & Trackman, P. C. (1999). Regulation of lysyl oxidase, collagen, and connective tissue growth factor by TGF-beta1 and detection in human gingiva. *Lab. Invest.*, 79(12), 1655-1667.
- Huang, H., & Tindall, D. J. (2007). Dynamic FoxO transcription factors. *J. Cell Sci.*, 120(Pt 15), 2479-2487.
- Hübner, G., Brauchle, M., Smola, H., Madlener, M., Fässler, R., & Werner, S. (1996). Differential regulation of pro-inflammatory cytokines during wound healing in normal and glucocorticoid-treated mice. *Cytokine*, 8(7), 548-556.
- Ihrcke, N. S., Parker, W., Reissner, K. J., & Platt, J. L. (1998). Regulation of platelet heparanase during inflammation: role of pH and proteinases. *J. Cell. Physiol.*, 175(3), 255-267.
- Ikeda, H., Shiraiwa, M., Yamaza, T., Yoshinari, M., Kido, M. A., Ayukawa, Y., . . . Tanaka, T. (2002). Difference in penetration of horseradish peroxidase tracer as a foreign substance into the peri-implant or junctional epithelium of rat gingivae. *Clinical oral implants research*, 13(3), 243-251.
- Ikeda, H., Yamaza, T., Yoshinari, M., Ohsaki, Y., Ayukawa, Y., Kido, M. A., . . . Tanaka, T. (2000). Ultrastructural and immunoelectron microscopic studies of the peri-implant epithelium-implant (Ti-6Al-4V) interface of rat maxilla. *J. Periodontol.*, 71(6), 961-973.

- Itoiz, M. E., Conti, C. J., Gimenez, I. B., Lanfranchi, H. E., Fernandez-Alonso, G. I., & Klein-Szanto, A. J. (1986). Immunodetection of involucrin in lesions of the oral mucosa. *J. Oral Pathol.*, 15(4), 205-208.
- Itoiz, M. E., Conti, C. J., Lanfranchi, H. E., Mamrack, M., & Klein-Szanto, A. J. (1985). Immunohistochemical detection of filaggrin in preneoplastic and neoplastic lesions of the human oral mucosa. *Am. J. Pathol.*, 119(3), 456-461.
- Itoiz, M. E., Lanfranchi, H. E., Gimenez-Conti, I. B., & Conti, C. J. (1984). Immunohistochemical demonstration of keratins in oral mucosa lesions. *Acta Odontol. Latinoam.*, 1(1), 47-51.
- Jacobs, R., & van Steenberghe, D. (1994). Role of periodontal ligament receptors in the tactile function of teeth: a review. *J. Periodontal Res.*, 29(3), 153-167.
- James, R. (1973). Hemidesmosomes and the adhesion of junctional epithelial cells to metal implants-a preliminary report. *J Oral Implantol*, 4, 294-302.
- Jang, A. T., Lin, J. D., Choi, R. M., Choi, E. M., Seto, M. L., Ryder, M. I., . . . Ho, S. P. (2014). Adaptive properties of human cementum and cementum dentin junction with age. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, 39, 184-196.
- Jazwa, A., Kucharzewska, P., Leja, J., Zagorska, A., Sierpniowska, A., Stepniewski, J., . . . Dulak, J. (2010). Combined vascular endothelial growth factor-A and fibroblast growth factor 4 gene transfer improves wound healing in diabetic mice. *Genet. Vaccines Ther.*, 8(1), 6.
- Jemt, T., & Johansson, J. (2006). Implant treatment in the edentulous maxillae: a 15-year follow-up study on 76 consecutive patients provided with fixed prostheses. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.*, 8(2), 61-69.

- Jemt, T., & Lekholm, U. (1995). Implant treatment in edentulous maxillae: a 5-year follow-up report on patients with different degrees of jaw resorption. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 10(3), 303-311.
- Jervøe-Storm, P. M., Koltzsch, M., Falk, W., Dörfler, A., & Jepsen, S. (2005). Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol*, 32(7), 778-783.
- Jiang, S., Yang, Z., Di, S., Hu, W., Ma, Z., Chen, F., & Yang, Y. (2018). *Novel role of forkhead box O 4 transcription factor in cancer: bringing out the good or the bad*. Paper presented at the Semin. Cancer Biol.
- Jinnin, M., Ihn, H., & Tamaki, K. (2006). Characterization of SIS3, a novel specific inhibitor of Smad3, and its effect on transforming growth factor- β 1-induced extracellular matrix expression. *Molecular pharmacology*, 69(2), 597-607.
- Johnson, R. B., Serio, F. G., & Dai, X. (1999). Vascular endothelial growth factors and progression of periodontal diseases. *J. Periodontol.*, 70(8), 848-852.
- Kan, J. Y., Rungcharassaeng, K., Umez, K., & Kois, J. C. (2003). Dimensions of peri-implant mucosa: an evaluation of maxillary anterior single implants in humans. *J. Periodontol.*, 74(4), 557-562.
- Karbach, J., Callaway, A., Kwon, Y.-D., d'Hoedt, B., & Al-Nawas, B. (2009). Comparison of five parameters as risk factors for peri-mucositis. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24(3).
- Karhausen, J., Haase, V. H., & Colgan, S. P. (2005). Inflammatory hypoxia: role of hypoxia-inducible factor. *Cell Cycle*, 4(2), 256-258.

- Kawahara, H., Kawahara, D., Hashimoto, K., Takashima, Y., & Ong, J. L. (1998). Morphologic studies on the biologic seal of titanium dental implants. Report I. In vitro study on the epithelialization mechanism around the dental implant. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 13(4), 457-464.
- Kim, Y. S., Shin, S. I., Kang, K. L., Chung, J. H., Herr, Y., Bae, W. J., & Kim, E. C. J. J. o. p. r. (2012). Nicotine and lipopolysaccharide stimulate the production of MMPs and prostaglandin E2 by hypoxia-inducible factor-1 α up-regulation in human periodontal ligament cells. 47(6), 719-728.
- Kirschner, H., & Ruhl, E. (1969). [Radioautographic studies with 3H-thymidine on the regeneration of epithelial attachments]. *Dtsch. Zahnarztl. Z.*, 24(9), 816-824.
- Kivelä-Rajamäki, M., Maisi, P., Srinivas, R., Tervahartiala, T., Teronen, O., Husa, V., . . . Sorsa, T. (2003). Levels and molecular forms of MMP-7 (matrilysin-1) and MMP-8 (collagenase-2) in diseased human peri-implant sulcular fluid. *Journal of periodontal research*, 38(6), 583-590.
- Klinge, B. (1991). Implants in relation to natural teeth. *J. Clin. Periodontol.*, 18(6), 482-487.
- Koka, S. (1998). The implant-mucosal interface and its role in the long-term success of endosseous oral implants: a review of the literature. *Int. J. Prosthodont.*, 11(5), 421-432.
- Kontinen, Y. T., Lappalainen, R., Laine, P., Kitti, U., Santavirta, S., & Teronen, O. (2006). Immunohistochemical evaluation of inflammatory mediators in failing implants. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, 26(2), 135-141.

- Kornman, K. S., Page, R. C., & Tonetti, M. S. (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol. 2000*, 14(1), 33-53.
- Koutouzis, T., Gadalla, H., & Lundgren, T. (2016). Bacterial Colonization of the Implant-Abutment Interface (IAI) of Dental Implants with a Sloped Marginal Design: An in-vitro Study. *Clinical implant dentistry and related research*, 18(1), 161-167.
- Krawczyk, W. S. (1971). A pattern of epidermal cell migration during wound healing. *J. Cell Biol.*, 49(2), 247-263.
- Krekeler, G., Kappert, H. F., & Schilli, W. (1985). Scanning electron microscopic study of the reaction of human bone to a titanium implant. *Int. J. Oral Surg.*, 14(5), 447-450.
- Kuhn, K., Glanville, R., Fessler, J., Fessler, L., Timpl, R., Engel, J., . . . van der Rest, M. (1987). Structure and function of collagen types. *Ch*, 1, 1-37.
- Kumar, S., Millis, A. J., & Baglioni, C. (1992). Expression of interleukin 1-inducible genes and production of interleukin 1 by aging human fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 89(10), 4683-4687.
- Kurahashi, Y. (1962). Electron microscopy of human gingival epithelium. *Bulletin of Tokyo Dental College*, 3(1), ????
- Kyllar, M., Witter, K., & Tichy, F. (2010). Gingival stippling in dogs: clinical and structural characteristics. *Res. Vet. Sci.*, 88(2), 195-202.
- Lam, E. W., Brosens, J. J., Gomes, A. R., & Koo, C. Y. (2013). Forkhead box proteins: tuning forks for transcriptional harmony. *Nat. Rev. Cancer*, 13(7), 482-495.

- Lang, N. P., Salvi, G. E., Huynh-Ba, G., Ivanovski, S., Donos, N., & Bosshardt, D. D. (2011). Early osseointegration to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in humans. *Clin. Oral Implants Res.*, 22(4), 349-356.
- Lekic, P., & McCulloch, C. (1996). Periodontal ligament cell populations: the central role of fibroblasts in creating a unique tissue. *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 245(2), 327-341.
- Leonhardt, A., Berglundh, T., Ericsson, I., & Dahlen, G. (1992). Putative periodontal pathogens on titanium implants and teeth in experimental gingivitis and periodontitis in beagle dogs. *Clin. Oral Implants Res.*, 3(3), 112-119.
- Li, J. P., Li, F. Y., Xu, A., Cheng, B., Tsao, S. W., Fung, M. L., & Leung, W. K. (2012). Lipopolysaccharide and hypoxia-induced HIF-1 activation in human gingival fibroblasts. *J. Periodontol.*, 83(6), 816-824.
- Li, M., Firth, J. D., & Putnins, E. E. (2005). Keratinocyte growth factor-1 expression in healthy and diseased human periodontal tissues. *J. Periodontal Res.*, 40(2), 118-128.
- Lijnen, P., & Petrov, V. (2002). Transforming growth factor-beta 1-induced collagen production in cultures of cardiac fibroblasts is the result of the appearance of myofibroblasts. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 24(6), 333-344.
- Lin, G. H., Chan, H. L., & Wang, H. L. (2013). The significance of keratinized mucosa on implant health: a systematic review. *J. Periodontol.*, 84(12), 1755-1767.
- Lin, L., Hron, J. D., & Peng, S. L. J. I. (2004). Regulation of NF- κ B, Th activation, and autoinflammation by the forkhead transcription factor Foxo3a. 21(2), 203-213.

- Lind, M., Deleuran, B., Thestrup-Pedersen, K., Soballe, K., Eriksen, E. F., & Bunger, C. (1995). Chemotaxis of human osteoblasts. Effects of osteotropic growth factors. *APMIS*, 103(2), 140-146.
- Lindhe, J., Bressan, E., Cecchinato, D., Corra, E., Toia, M., & Liljenberg, B. (2013). Bone tissue in different parts of the edentulous maxilla and mandible. *Clin. Oral Implants Res.*, 24(4), 372-377.
- Lindhe, J., Hamp, S. E., & Löe, H. (1973). Experimental periodontitis in the beagle dog. *Journal of Periodontal Research*, 8(1), 1-10.
- Lindhe, J., Meyle, J., & Group, D. o. E. W. o. P. (2008). Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J. Clin. Periodontol.*, 35(8 Suppl), 282-285.
- Lindhe, J., Wennström, J., & Berglundh, T. (2008). The mucosa at teeth and implants. *Clin Periodontol Implant Dent*, 71-77.
- Listgarten, M., Lang, N., Schroeder, H., & Schroeder, A. (1991). Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants. *Clinical oral implants research*, 2(1), 1-19.
- Listgarten, M. O. (1975). [Electronmicroscopic study of the odonto-gingival junction]. *Mondo Odontostomatol.*, 17(5), 10-24.
- Liu, Z.-P., Wang, Z., Yanagisawa, H., & Olson, E. N. J. D. c. (2005). Phenotypic modulation of smooth muscle cells through interaction of Foxo4 and myocardin. 9(2), 261-270.
- Löe, H., & Silness, J. J. A. o. s. (1963). Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. 21(6), 533-551.

- Löe, H., Theilade, E., & Jensen, S. B. (1965). Experimental gingivitis in man. *Journal of periodontology*, 36(3), 177-187.
- Lucarini, G., Zizzi, A., Rubini, C., Ciolino, F., & Aspriello, S. D. J. I. (2019). VEGF, microvessel density, and CD44 as inflammation markers in peri-implant healthy mucosa, peri-implant mucositis, and peri-implantitis: impact of age, smoking, PPD, and obesity. 42(2), 682-689.
- Markus Roupé, K., Alberius, P., Schmidtchen, A., & Sørensen, O. E. (2010). Gene expression demonstrates increased resilience toward harmful inflammatory stimuli in the proliferating epidermis of human skin wounds. *Experimental dermatology*, 19(8), e329-e332.
- Martin, G. R., & Timpl, R. (1987). Laminin and other basement membrane components. *Annu. Rev. Cell Biol.*, 3(1), 57-85.
- Martin, P. (1997). Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276(5309), 75-81.
- Martin, P., & Leibovich, S. J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol.*, 15(11), 599-607.
- Massagué, J. (1998). TGF- β signal transduction, Annu. Re V. In: Biochem.
- Mattos, C. M., & Santana, R. B. (2008). A quantitative evaluation of the spatial displacement of the gingival zenith in the maxillary anterior dentition. *J. Periodontol.*, 79(10), 1880-1885.
- McMahon, S., Charbonneau, M., Grandmont, S., Richard, D. E., & Dubois, C. M. (2006a). Transforming growth factor β 1 induces hypoxia-inducible factor-1 stabilization through selective inhibition of PHD2 expression. *Journal of Biological Chemistry*, 281(34), 24171-24181.

- McMahon, S., Charbonneau, M., Grandmont, S., Richard, D. E., & Dubois, C. M. J. J. o. B. C. (2006b). Transforming growth factor β 1 induces hypoxia-inducible factor-1 stabilization through selective inhibition of PHD2 expression. *281*(34), 24171-24181.
- Meijer, H. J., Raghoobar, G. M., de Waal, Y. C., & Vissink, A. (2014). Incidence of peri-implant mucositis and peri-implantitis in edentulous patients with an implant-retained mandibular overdenture during a 10-year follow-up period. *J. Clin. Periodontol.*, *41*(12), 1178-1183.
- Meikle, M. C., Atkinson, S. J., Ward, R. V., Murphy, G., & Reynolds, J. J. (1989). Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metalloproteinases. *Journal of periodontal research*, *24*(3), 207-213.
- Melcher, A., & Bowen, W. H. (1969). Biology of the Periodontium.
- Melcher, A. H. (1976). On the repair potential of periodontal tissues. *J. Periodontol.*, *47*(5), 256-260.
- Mendes, R. T., Nguyen, D., Stephens, D., Pamuk, F., Fernandes, D., Hasturk, H., . . . Research, E. D. (2018). Hypoxia-induced endothelial cell responses—possible roles during periodontal disease. *4*(6), 241-248.
- Mestecky, J. (1993). Saliva as a Manifestation of the Common Mucosal Immune System a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *694*(1), 184-194.
- Meyerov, R., Feller, L., Lemmer, J., & Khammissa, R. (2012). Peri-implant mucositis and periimplantitis: clinical and histopathological characteristics and treatment. *South African Dental Journal*, *67*(3), 122-126.

- Miyazono, K. (2000). TGF- β signaling by Smad proteins. *Cytokine & growth factor reviews*, 11(1-2), 15-22.
- Monje, A., Chan, H. L., Galindo-Moreno, P., Elnayef, B., Suarez-Lopez del Amo, F., Wang, F., & Wang, H. L. (2015). Alveolar Bone Architecture: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Periodontol.*, 86(11), 1231-1248.
- Moon, I. S., Berglundh, T., Abrahamsson, I., Linder, E., & Lindhe, J. (1999). The barrier between the keratinized mucosa and the dental implant: an experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology*, 26(10), 658-663.
- Morand, D. N., Davideau, J. L., Clauss, F., Jessel, N., Tenenbaum, H., & Huck, O. (2017). Cytokines during periodontal wound healing: potential application for new therapeutic approach. *Oral Dis.*, 23(3), 300-311.
- Morikawa, M., Chiba, T., Tomii, N., Sato, S., Takahashi, Y., Konishi, K., . . . Imai, K. (2008). Comparative analysis of putative periodontopathic bacteria by multiplex polymerase chain reaction. *Journal of periodontal research*, 43(3), 268-274.
- Moutsopoulos, H. M., Karsh, J., Wolf, R. O., Tarpley, T. M., Tylena, A., & Papadopoulos, N. M. (1980). Lysozyme determination in parotid saliva from patients with Sjögren's syndrome. *The American journal of medicine*, 69(1), 39-42.
- Muhlemann, H. R., Zander, H. A., & Halberg, F. (1954). Mitotic activity in the periodontal tissues of the rat molar. *J. Dent. Res.*, 33(4), 459-467.
- Murata, M., Tatsumi, J. i., Kato, Y., Suda, S., Nunokawa, Y., Kobayashi, Y., . . . Okuda, K. (2002). Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1 β in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clinical oral implants research*, 13(6), 637-643.

- Nakao, A., Imamura, T., Souchelnytskyi, S., Kawabata, M., Ishisaki, A., Oeda, E., . . . Miyazono, K. (1997). TGF- β receptor-mediated signalling through Smad2, Smad3 and Smad4. *The EMBO journal*, 16(17), 5353-5362.
- Nanci, A. (1999). Content and distribution of noncollagenous matrix proteins in bone and cementum: relationship to speed of formation and collagen packing density. *J. Struct. Biol.*, 126(3), 256-269.
- Nanci, A., & Bosshardt, D. D. (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontol. 2000*, 40(1), 11-28.
- Narayanan, A. S., & Page, R. C. (1983). Connective tissues of the periodontium: a summary of current work. *Coll. Relat. Res.*, 3(1), 33-64.
- Ness, K., Morton, T., & Dale, B. (1987). Identification of Merkel cells in oral epithelium using antikeratin and antineuroendocrine monoclonal antibodies. *Journal of dental research*, 66(6), 1154-1158.
- Newman, M. G., Takei, H., Klokkevold, P. R., & Carranza, F. A. (2011). *Carranza's clinical periodontology*: Elsevier health sciences.
- Ng, K. T., Li, J. P., Ng, K. M., Tipoe, G. L., Leung, W. K., & Fung, M. L. (2011a). Expression of hypoxia-inducible factor-1 α in human periodontal tissue. *Journal of periodontology*, 82(1), 136-141.
- Ng, K. T., Li, J. P., Ng, K. M., Tipoe, G. L., Leung, W. K., & Fung, M. L. J. J. o. p. (2011b). Expression of hypoxia-inducible factor-1 α in human periodontal tissue. 82(1), 136-141.
- Noh, M. K., Jung, M., Kim, S. H., Lee, S. R., Park, K. H., Kim, D. H., . . . Park, Y. G. (2013). Assessment of IL-6, IL-8 and TNF-alpha levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Exp. Ther. Med.*, 6(3), 847-851.

- Ochsenbein, C., & Ross, S. (1969). A reevaluation of osseous surgery. *Dent. Clin. North Am.*, 13(1), 87-102.
- Ogasawara, T., Yoshimine, Y., Kiyoshima, T., Kobayashi, I., Matsuo, K., Akamine, A., & Sakai, H. (2004). In situ expression of RANKL, RANK, osteoprotegerin and cytokines in osteoclasts of rat periodontal tissue. *J. Periodontal Res.*, 39(1), 42-49.
- Ohshima, M., Sakai, A., Sawamoto, Y., Seki, K., Ito, K., & Otsuka, K. (2002). Hepatocyte growth factor (HGF) system in gingiva: HGF activator expression by gingival epithelial cells. *J. Oral Sci.*, 44(3-4), 129-134.
- Okada, H., & Murakami, S. (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 9(3), 248-266.
- Olsson, M., Lindhe, J., & Marinello, C. (1993). On the relationship between crown form and clinical features of the gingiva in adolescents. *Journal of clinical periodontology*, 20(8), 570-577.
- Olsson, M., & Lindhe, J. (1991). Periodontal characteristics in individuals with varying form of the upper central incisors. *J. Clin. Periodontol.*, 18(1), 78-82.
- Op Heij, D. G., Opdebeeck, H., van Steenberghe, D., & Quirynen, M. (2003). Age as compromising factor for implant insertion. *Periodontology 2000*, 33(1), 172-184.
- Orban, B. (1948). Clinical and histologic study of the surface characteristics of the gingiva. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 1(9), 827-841.
- Ordman, L., & Gillman, T. (1966). Studies in the healing of cutaneous wounds: I. The healing of incisions through the skin of pigs. *Archives of Surgery*, 93(6), 857-882.
- Osta, B., Benedetti, G., & Miossec, P. (2014). Classical and Paradoxical Effects of TNF-alpha on Bone Homeostasis. *Front. Immunol.*, 5, 48.

- Oyama, T., Sakuta, T., Matsushita, K., Maruyama, I., Nagaoka, S., & Torii, M. (2000). Effects of roxithromycin on tumor necrosis factor-alpha-induced vascular endothelial growth factor expression in human periodontal ligament cells in culture. *J. Periodontol.*, 71(10), 1546-1553.
- Özçakır-Tomruk, C., Chiquet, M., & Mericske-Stern, R. (2012). Tenascin-C and matrix metalloproteinase-9 levels in crevicular fluid of teeth and implants. *Clinical implant dentistry and related research*, 14(5), 672-681.
- Page, R., Ammons, W., Schectman, L., & Dillingham, L. (1974). Collagen fibre bundles of the normal marginal gingiva in the marmoset. *Archives of oral biology*, 19(11), 1039-1043.
- Page, R. C. (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J. Periodontal Res.*, 26(3 Pt 2), 230-242.
- Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol. 2000*, 14(1), 9-11.
- Page, R. C., & Schroeder, H. E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.*, 34(3), 235-249.
- Paik, J. H., Kollipara, R., Chu, G., Ji, H., Xiao, Y., Ding, Z., . . . DePinho, R. A. (2007). FoxOs are lineage-restricted redundant tumor suppressors and regulate endothelial cell homeostasis. *Cell*, 128(2), 309-323.
- Panagakos, F. S., Aboyoussef, H., Dondero, R., & Jandinski, J. J. (1996). Detection and measurement of inflammatory cytokines in implant crevicular fluid: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 11(6), 794-799.

- Parpaiola, A., Cecchinato, D., Toia, M., Bressan, E., Speroni, S., & Lindhe, J. (2015). Dimensions of the healthy gingiva and peri-implant mucosa. *Clin. Oral Implants Res.*, 26(6), 657-662.
- Pellegrini, G., Francetti, L., Barbaro, B., & Del Fabbro, M. (2018). Novel surfaces and osseointegration in implant dentistry. *J. Investig. Clin. Dent.*, 9(4), e12349.
- Peng, C., Chen, B., Kao, H.-K., Murphy, G., Orgill, D. P., Guo, L. J. P., & surgery, r. (2011). Lack of FGF-7 further delays cutaneous wound healing in diabetic mice. *128*(6), 673e-684e.
- Periodontology, A. A. o. (2001). *Glossary of periodontal terms*: American Academy of Periodontology.
- Petković-Ćurčin, A., Matić, S., Vojvodić, D., Stamatović, N., & Todorović, T. (2011). Cytokines in pathogenesis of peri-implantitis. *Vojnosanitetski pregled*, 68(5), 435-440.
- Pettigrew, D., Ho, G., Sodek, J., Brunette, D., & Wang, H.-M. (1978). Effect of oxygen tension and indomethacin on production of collagenase and neutral proteinase enzymes and their latent forms by porcine gingival explants in culture. *Archives of oral biology*, 23(9), 767-777.
- Peyssonnaud, C., Boutin, A. T., Zinkernagel, A. S., Datta, V., Nizet, V., & Johnson, R. S. J. J. o. I. D. (2008). Critical role of HIF-1 α in keratinocyte defense against bacterial infection. *128*(8), 1964-1968.
- Peyssonnaud, C., Datta, V., Cramer, T., Doedens, A., Theodorakis, E. A., Gallo, R. L., . . . Johnson, R. S. J. T. J. o. c. i. (2005). HIF-1 α expression regulates the bactericidal capacity of phagocytes. *115*(7), 1806-1815.

- Phillips, S. J. (2000). Physiology of wound healing and surgical wound care. *ASAIO J.*, 46(6), S2-5.
- Pontoriero, R., Tonelli, M. P., Carnevale, G., Mombelli, A., Nyman, S. R., & Lang, N. P. (1994). Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin. Oral Implants Res.*, 5(4), 254-259.
- Porras, R., Anderson, G. B., Caffesse, R., Narendran, S., & Trejo, P. M. (2002). Clinical response to 2 different therapeutic regimens to treat peri-implant mucositis. *J. Periodontol.*, 73(10), 1118-1125.
- Pradeep, A., Prapulla, D., Sharma, A., & Sujatha, P. J. C. (2011). Gingival crevicular fluid and serum vascular endothelial growth factor: their relationship in periodontal health, disease and after treatment. 54(2), 200-204.
- Putnins, E. E., Sanaie, A.-R., Wu, Q., Firth, J. D. J. I., & immunity. (2002). Induction of keratinocyte growth factor 1 expression by lipopolysaccharide is regulated by CD-14 and toll-like receptors 2 and 4. 70(12), 6541-6548.
- Qu, Z., & Chaikof, E. L. (2010). Interface between hemostasis and adaptive immunity. *Current opinion in immunology*, 22(5), 634-642.
- Rakic, M., Grusovin, M. G., & Canullo, L. (2016). The Microbiologic Profile Associated with Peri-Implantitis in Humans: A Systematic Review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 31(2).
- Rakic, M., Lekovic, V., Nikolic-Jakoba, N., Vojvodic, D., Petkovic-Curcin, A., & Sanz, M. (2013). Bone loss biomarkers associated with peri-implantitis. A cross-sectional study. *Clin. Oral Implants Res.*, 24(10), 1110-1116.

- Ramberg, P., Lindhe, J., Botticelli, D., & Botticelli, A. (2009). The effect of a triclosan dentifrice on mucositis in subjects with dental implants: a six-month clinical study. *J. Clin. Dent.*, 20(3), 103-107.
- Renvert, S., Aghazadeh, A., Hallström, H., & Persson, G. R. (2014). Factors related to peri-implantitis—a retrospective study. *Clinical oral implants research*, 25(4), 522-529.
- Renvert, S., Persson, G. R., Pirih, F. Q., & Camargo, P. M. J. J. o. c. p. (2018). Peri-implant health, peri-implant mucositis, and peri-implantitis: Case definitions and diagnostic considerations. 45, S278-S285.
- Renvert, S., Persson, R. E., & Persson, G. R. (2013). Tooth loss and periodontitis in older individuals: results from the Swedish National Study on Aging and Care. *J. Periodontol.*, 84(8), 1134-1144.
- Renvert, S., & Polyzois, I. (2015). Risk indicators for peri-implant mucositis: a systematic literature review. *J. Clin. Periodontol.*, 42 Suppl 16, S172-186.
- Rinke, S., Ohl, S., Ziebolz, D., Lange, K., & Eickholz, P. (2011). Prevalence of periimplant disease in partially edentulous patients: a practice-based cross-sectional study. *Clin. Oral Implants Res.*, 22(8), 826-833.
- Ritchey, B., & Orban, B. (1953). The crests of the interdental alveolar septa. *The Journal of Periodontology*, 24(2), 75-87.
- Roach, H. (1994). Why does bone matrix contain non-collagenous proteins? The possible roles of osteocalcin, osteonectin, osteopontin and bone sialoprotein in bone mineralisation and resorption. *Cell biology international*, 18(6), 617-628.
- Roberts, A. B. (1995). Transforming growth factor-beta: activity and efficacy in animal models of wound healing. *Wound Repair Regen.*, 3(4), 408-418.

- Robson, M. C. (2003). Cytokine manipulation of the wound. *Clin. Plast. Surg.*, 30(1), 57-65.
- Roccuzzo, M., Grasso, G., & Dalmasso, P. (2016). Keratinized mucosa around implants in partially edentulous posterior mandible: 10-year results of a prospective comparative study. *Clin. Oral Implants Res.*, 27(4), 491-496.
- Romanos, G. E., Biltucci, M. T., Kokaras, A., & Paster, B. J. (2016). Bacterial composition at the implant-abutment connection under loading in vivo. *Clinical implant dentistry and related research*, 18(1), 138-145.
- Romeo, E., Lops, D., Rossi, A., Storelli, S., Rozza, R., & Chiapasco, M. (2008). Surgical and prosthetic management of interproximal region with single-implant restorations: 1-year prospective study. *J. Periodontol.*, 79(6), 1048-1055.
- Roos-Jansåker, A. M., Renvert, H., Lindahl, C., & Renvert, S. (2006). Nine-to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part III: factors associated with peri-implant lesions. *Journal of clinical periodontology*, 33(4), 296-301.
- Roos, J., Sennerby, L., Lekholm, U., Jemt, T., Gröndahl, K., & Albrektsson, T. (1997). A qualitative and quantitative method for evaluating implant success: a 5-year retrospective analysis of the Brånemark implant. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 12(4).
- Ruben, M. (1980). Healing of periodontal surgical wounds. *Periodontal therapy*, 640-754.
- Rubin, J. S., Osada, H., Finch, P. W., Taylor, W. G., Rudikoff, S., & Aaronson, S. A. (1989). Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 86(3), 802-806.

- Ryser, M. R., Block, M. S., & Mercante, D. E. (2005). Correlation of papilla to crestal bone levels around single tooth implants in immediate or delayed crown protocols. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 63(8), 1184-1195.
- Salvi, G. E., Aglietta, M., Eick, S., Sculean, A., Lang, N. P., & Ramseier, C. A. (2012). Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clin. Oral Implants Res.*, 23(2), 182-190.
- Sanaie, A. R., Firth, J. D., Uitto, V. J., & Putnins, E. E. J. J. o. p. r. (2002). Keratinocyte growth factor (KGF)-1 and-2 protein and gene expression in human gingival fibroblasts. 37(1), 66-74.
- Sanz, M., Alandez, J., Lazaro, P., Calvo, J., Quirynen, M., & van Steenberghe, D. (1991). Histo-pathologic characteristics of peri-implant soft tissues in Brånemark implants with 2 distinct clinical and radiological patterns. *Clinical oral implants research*, 2(3), 128-134.
- Sanz, M., Newman, M. G., Nachnani, S., Holt, R., Stewart, R., & Flemmig, T. (1990). Characterization of the subgingival microbial flora around endosteal sapphire dental implants in partially edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 5(3), 247-253.
- Sarlati, F., Sattari, M., Gazar, A. G., & Rafsenjani, A. N. (2010). Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) levels in peri-implant crevicular fluid. *Iran J. Immunol.*, 7(4), 226-233.
- Sarrazy, V., Billet, F., Micallef, L., Coulomb, B., & Desmouliere, A. (2011). Mechanisms of pathological scarring: role of myofibroblasts and current developments. *Wound Repair Regen.*, 19 Suppl 1, s10-15.

- Saygin, N. E., Giannobile, W. V., & Somerman, M. J. (2000). Molecular and cell biology of cementum. *Periodontol. 2000*, 24(1), 73-98.
- Schou, S., Holmstrup, P., Stoltze, K., Hjorting-Hansen, E., Fiehn, N. E., & Skovgaard, L. T. (2002). Probing around implants and teeth with healthy or inflamed peri-implant mucosa/gingiva. A histologic comparison in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Clin. Oral Implants Res.*, 13(2), 113-126.
- Schrementi, M. E., Ferreira, A. M., Zender, C., & DiPietro, L. A. (2008). Site-specific production of TGF-beta in oral mucosal and cutaneous wounds. *Wound Repair Regen.*, 16(1), 80-86.
- Schroeder, A., van der Zypen, E., Stich, H., & Sutter, F. (1981). The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *J. Maxillofac. Surg.*, 9(1), 15-25.
- Schroeder, H. E. (1969). Melanin containing organelles in cells of the human gingiva I. Epithelial Melanocytes. *Journal of periodontal research*, 4(1), 1-18.
- Schroeder, H. E., & Listgarten, M. A. (1997). The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol. 2000*, 13(1), 91-120.
- Schroeder, H. E., Munzel-Pedrazzoli, S., & Page, R. (1973). Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. *Arch. Oral Biol.*, 18(7), 899-923.
- Schrott, A. R., Jimenez, M., Hwang, J. W., Fiorellini, J., & Weber, H. P. (2009). Five-year evaluation of the influence of keratinized mucosa on peri-implant soft-tissue health and stability around implants supporting full-arch mandibular fixed prostheses. *Clin. Oral Implants Res.*, 20(10), 1170-1177.

- Schwarz, F., & Becker, J. (2008). Periimplantäre Entzündungen. *Zahnmedizin up2date*, 2(01), 53-69.
- Schwarz, F., Iglhaut, G., & Becker, J. (2012). Quality assessment of reporting of animal studies on pathogenesis and treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis. A systematic review using the ARRIVE guidelines. *Journal of clinical periodontology*, 39, 63-72.
- Schwarz, F., Sahm, N., & Becker, J. (2008). Aktuelle aspekte zur therapie periimplantärer entzündungen. *Quintessenz*, 59(00).
- Sciubba, J. J., Waterhouse, J. P., & Meyer, J. (1978). A fine structural comparison of the healing of incisional wounds of mucosa and skin. *J. Oral Pathol.*, 7(4), 214-227.
- Sculean, A., Gruber, R., & Bosshardt, D. D. (2014). Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. *J. Clin. Periodontol.*, 41 Suppl 15, S6-22.
- Sculean, A., Nikolidakis, D., Nikou, G., Ivanovic, A., Chapple, I. L., & Stavropoulos, A. (2015). Biomaterials for promoting periodontal regeneration in human intrabony defects: a systematic review. *Periodontol. 2000*, 68(1), 182-216.
- Seibert, J., & Lindhe, J. (1989). Esthetics and periodontal therapy. *Textbook of clinical periodontology*, 2, 477-514.
- Severino, V. O., Napimoga, M. H., & de Lima Pereira, S. A. (2011). Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-8 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Arch. Oral Biol.*, 56(8), 823-828.
- Shi, Q.-Y., Huang, S.-G., Zeng, J.-H., & Fang, X.-G. J. J. o. D. S. (2015). Expression of hypoxia inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor-C in human chronic periodontitis. *10*(3), 323-333.

- Silness, J., & Löe, H. J. A. o. s. (1964). Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *22*(1), 121-135.
- Silva, N., Abusleme, L., Bravo, D., Dutzan, N., Garcia-Sesnich, J., Vernal, R., . . . Gamonal, J. (2015). Host response mechanisms in periodontal diseases. *J Appl Oral Sci*, *23*(3), 329-355.
- Singer, A. J., & Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *N. Engl. J. Med.*, *341*(10), 738-746.
- Skougaard, M. (1970). Cell renewal, with special reference to the gingival epithelium. In *Adv. Oral Biol.* (Vol. 4, pp. 261-288): Elsevier.
- Smith, P. C., Martinez, C., Martinez, J., & McCulloch, C. A. (2019). Role of Fibroblast Populations in Periodontal Wound Healing and Tissue Remodeling. *Front. Physiol.*, *10*, 270.
- Sodek, J. (1977). A comparison of the rates of synthesis and turnover of collagen and non-collagen proteins in adult rat periodontal tissues and skin using a microassay. *Archives of oral biology*, *22*(12), 655-665.
- Sodek, J., & McKee, M. D. (2000). Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol. 2000*, *24*(1), 99-126.
- Sorsa, T., Tjaderhane, L., Konttinen, Y. T., Lauhio, A., Salo, T., Lee, H. M., . . . Mantyla, P. (2006). Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann. Med.*, *38*(5), 306-321.
- Spiekermann, H. (1994). *Implantologie* (Vol. 10): Thieme.
- Squier, C. A., & Kremer, M. J. (2001). Biology of oral mucosa and esophagus. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.*, *2001*(29), 7-15.

- Stern, I. B. (1965). Electron microscopic observations of oral epithelium. I. Basal cells and the basement membrane. *Periodontics*, 3(5), 224-238.
- Stern, I. B. (1981). Current concepts of the dentogingival junction: the epithelial and connective tissue attachments to the tooth. *J. Periodontol.*, 52(9), 465-476.
- Storz, P. (2011). Forkhead homeobox type O transcription factors in the responses to oxidative stress. *Antioxidants & redox signaling*, 14(4), 593-605.
- Subramani, K., Jung, R. E., Molenberg, A., & Hammerle, C. H. (2009). Biofilm on dental implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 24(4), 616-626.
- Susin, C., Fiorini, T., Lee, J., De Stefano, J. A., Dickinson, D. P., & Wikesjo, U. M. (2015). Wound healing following surgical and regenerative periodontal therapy. *Periodontol. 2000*, 68(1), 83-98.
- Suthin, K., Matsushita, K., Machigashira, M., Tatsuyama, S., Imamura, T., Torii, M., & Izumi, Y. (2003). Enhanced expression of vascular endothelial growth factor by periodontal pathogens in gingival fibroblasts. *J. Periodontal Res.*, 38(1), 90-96.
- Szpaderska, A. M., Zuckerman, J. D., & DiPietro, L. A. (2003). Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds. *J. Dent. Res.*, 82(8), 621-626.
- Tang, T. T., & Lasky, L. A. (2003). The forkhead transcription factor FOXO4 induces the down-regulation of hypoxia-inducible factor 1 alpha by a von Hippel-Lindau protein-independent mechanism. *J. Biol. Chem.*, 278(32), 30125-30135.
- Tarnow, D. P., Magner, A. W., & Fletcher, P. (1992). The effect of the distance from the contact point to the crest of bone on the presence or absence of the interproximal dental papilla. *J. Periodontol.*, 63(12), 995-996.

- Thangarajah, H., Yao, D., Chang, E. I., Shi, Y., Jazayeri, L., Vial, I. N., . . . Gurtner, G. C. (2009). The molecular basis for impaired hypoxia-induced VEGF expression in diabetic tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, *106*(32), 13505-13510.
- Theilade, E., Wright, W., Jensen, S. B., & Löe, H. (1966). Experimental gingivitis in man: II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *Journal of periodontal research*, *1*(1), 1-13.
- Theoleyre, S., Wittrant, Y., Tat, S. K., Fortun, Y., Redini, F., & Heymann, D. (2004). The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev.*, *15*(6), 457-475.
- Thomas, M. V., & Puleo, D. A. (2011). Infection, inflammation, and bone regeneration: a paradoxical relationship. *J. Dent. Res.*, *90*(9), 1052-1061.
- Thornton, R. D., Lane, P., Borghaei, R. C., Pease, E. A., Caro, J., & Mochan, E. (2000). Interleukin 1 induces hypoxia-inducible factor 1 in human gingival and synovial fibroblasts. *Biochem. J.*, *350 Pt 1*(1), 307-312.
- Thöne-Mühling, M., Swierkot, K., Nonnenmacher, C., Mutters, R., Flores-de-Jacoby, L., & Mengel, R. (2010). Comparison of two full-mouth approaches in the treatment of peri-implant mucositis: a pilot study. *Clinical oral implants research*, *21*(5), 504-512.
- Timpl, R. (1993). Proteoglycans of basement membranes. *Experientia*, *49*(5), 417-428.
- Timpl, R., & Brown, J. C. (1994). The laminins. *Matrix Biol.*, *14*(4), 275-281.
- Toker, H., Balci Yuce, H., Lektemur Alpan, A., Gevrek, F., & Elmastas, M. (2018). Morphometric and histopathological evaluation of the effect of grape seed

- proanthocyanidin on alveolar bone loss in experimental diabetes and periodontitis. *J. Periodontal Res.*, 53(3), 478-486.
- Tomokiyo, A., Wada, N., & Maeda, H. (2019). Periodontal Ligament Stem Cells: Regenerative Potency in Periodontium. *Stem Cells Dev.*, 28(15), 974-985.
- Tompkins, K. A. (2016). The osteoimmunology of alveolar bone loss. *Connect. Tissue Res.*, 57(2), 69-90.
- Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. J. J. o. p. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. 89, S159-S172.
- Trebec-Reynolds, D. P., Voronov, I., Heersche, J. N., & Manolson, M. F. J. J. o. c. b. (2010). VEGF-A expression in osteoclasts is regulated by NF- κ B induction of HIF-1 α . 110(2), 343-351.
- Trindade, F., Oppenheim, F. G., Helmerhorst, E. J., Amado, F., Gomes, P. S., & Vitorino, R. (2014). Uncovering the molecular networks in periodontitis. *Proteomics Clin. Appl.*, 8(9-10), 748-761.
- Trulsson, M. (2006). Sensory-motor function of human periodontal mechanoreceptors. *J. Oral Rehabil.*, 33(4), 262-273.
- Uchida, L., Tanaka, T., Saito, H., Sugahara, M., Wakashima, T., Fukui, K., & Nangaku, M. (2020). Effects of a prolyl hydroxylase inhibitor on kidney and cardiovascular complications in a rat model of chronic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 318(2), F388-F401.
- Ünlü, F., Güneri, P. G., Hekimgil, M., Yeşilbek, B., & Boyacioğlu, H. J. J. o. p. (2003). Expression of vascular endothelial growth factor in human periodontal tissues: comparison of healthy and diabetic patients. 74(2), 181-187.

- van Winkelhoff, A. J. (2003). Microbiology in diagnosis and treatment planning in periodontics. *International journal of dental hygiene*, 1(3), 131-137.
- Vasconcelos, R. C., Costa, A. d. L. L., Freitas, R. d. A., Bezerra, B. A. d. A., Santos, B. R. M. d., Pinto, L. P., & Gurgel, B. C. d. V. J. B. D. J. (2016). Immunoexpression of HIF-1 α and VEGF in periodontal disease and healthy gingival tissues. 27(2), 117-122.
- Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J. Int. Med. Res.*, 37(5), 1528-1542.
- Venza, I., Visalli, M., Cucinotta, M., De Grazia, G., Teti, D., & Venza, M. (2010). Proinflammatory gene expression at chronic periodontitis and peri-implantitis sites in patients with or without type 2 diabetes. *Journal of periodontology*, 81(1), 99-108.
- Vidal, B. C., Mello, M. L., & Valdrighi, L. (1974). Histochemical and anisotropical aspects of the rat cementum. *Acta Anat. (Basel)*, 89(4), 546-559.
- Vieira, A. E., Moura, C. C. G., de Souza, M. A., Zanetta-Barbosa, D., & Dechichi, P. (2013). Would nitric oxide be an effective marker for earlier stages of peri-implant disease? An analysis in human peri-implant sulcular fluid. *Journal of Oral Implantology*, 39(1), 37-43.
- Wahl, S. M., Costa, G. L., Mizel, D. E., Allen, J. B., Skaleric, U., & Mangan, D. F. (1993). Role of transforming growth factor beta in the pathophysiology of chronic inflammation. *J. Periodontol.*, 64(5 Suppl), 450-455.
- Wang, Q., Sztukowska, M., Ojo, A., Scott, D. A., Wang, H., & Lamont, R. J. J. C. m. (2015). FOXO responses to *Porphyromonas gingivalis* in epithelial cells. 17(11), 1605-1617.

- Wang, Y., Zhou, Y., & Graves, D. T. (2014). FOXO transcription factors: their clinical significance and regulation. *BioMed research international*, 2014.
- Watanabe, T., Yasue, A., & Tanaka, E. (2013a). Inhibition of transforming growth factor β 1/Smad3 signaling decreases hypoxia-inducible factor-1 α protein stability by inducing prolyl hydroxylase 2 expression in human periodontal ligament cells. *Journal of periodontology*, 84(9), 1346-1352.
- Watanabe, T., Yasue, A., & Tanaka, E. J. J. o. p. (2013b). Inhibition of transforming growth factor β 1/Smad3 signaling decreases hypoxia-inducible factor-1 α protein stability by inducing prolyl hydroxylase 2 expression in human periodontal ligament cells. 84(9), 1346-1352.
- Weber, H. P., & Cochran, D. L. (1998). The soft tissue response to osseointegrated dental implants. *J. Prosthet. Dent.*, 79(1), 79-89.
- Wennström, J., & Lindhe, J. (1983). Role of attached gingiva for maintenance of periodontal health: healing following excisional and grafting procedures in dogs. *Journal of clinical periodontology*, 10(2), 206-221.
- Werner, S., Krieg, T., & Smola, H. (2007). Keratinocyte–fibroblast interactions in wound healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(5), 998-1008.
- Werner, S., Peters, K. G., Longaker, M. T., Fuller-Pace, F., Banda, M. J., & Williams, L. T. (1992). Large induction of keratinocyte growth factor expression in the dermis during wound healing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 89(15), 6896-6900.
- Wikesjö, U. M., Crigger, M., Nilvéus, R., & Selvig, K. A. (1991). Early healing events at the dentin-connective tissue interface. Light and transmission electron microscopy observations. *Journal of periodontology*, 62(1), 5-14.

- William McKeown, S. T., Hyland, P. L., Locke, M., Mackenzie, I. C., & Irwin, C. R. J. E. j. o. o. s. (2003). Keratinocyte growth factor and scatter factor expression by regionally defined oral fibroblasts. *111*(1), 42-50.
- Wilson, V. (2013). An insight into peri-implantitis: a systematic literature review. *Primary dental journal*, *2*(2), 69-73.
- Witte, M. B., & Barbul, A. (1997). General principles of wound healing. *Surg. Clin. North Am.*, *77*(3), 509-528.
- Wong, J. W., Gallant-Behm, C., Wiebe, C., Mak, K., Hart, D. A., Larjava, H., & Häkkinen, L. (2009). Wound healing in oral mucosa results in reduced scar formation as compared with skin: evidence from the red Duroc pig model and humans. *Wound Repair and Regeneration*, *17*(5), 717-729.
- Xu, T., Marjoribanks, C., Trinh, C., & Nguyen, J. (2008). A powerful sybr® green one-step rt-pcr master mix tool: Power sybr green RNA-to-CTtm 1-step kit. In: AACR.
- Yamaza, T., Kido, M. A., Kiyoshima, T., Nishimura, Y., Himeno, M., & Tanaka, T. (1997). A fluid-phase endocytotic capacity and intracellular degradation of a foreign protein (horseradish peroxidase) by lysosomal cysteine proteinases in the rat junctional epithelium. *J. Periodontal Res.*, *32*(8), 651-660.
- Yamazaki, R., Kasuya, Y., Fujita, T., Umezawa, H., Yanagihara, M., Nakamura, H., . . . Murayama, T. J. T. F. J. (2017). Antifibrotic effects of cyclosporine A on TGF- β 1-treated lung fibroblasts and lungs from bleomycin-treated mice: role of hypoxia-inducible factor-1 α . *31*(8), 3359-3371.
- Yoneda, N., Yasue, A., Watanabe, T., & Tanaka, E. (2013). Down-regulation of Smad3 accelerates palatal wound repair. *J. Dent. Res.*, *92*(8), 716-720.

- Zhang, X., Schwarz, E. M., Young, D. A., Puzas, J. E., Rosier, R. N., & O'Keefe, R. J. (2002). Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. *The Journal of clinical investigation*, 109(11), 1405-1415.
- Zhang, X., Yan, X., Cheng, L., Dai, J., Wang, C., Han, P., & Chai, Y. (2013). Wound healing improvement with PHD-2 silenced fibroblasts in diabetic mice. *PLoS One*, 8(12), e84548.
- Zipkin, I. (1970). The inorganic composition of bones and teeth. In *Biological calcification: cellular and molecular aspects* (pp. 69-103): Springer.
- Zitzmann, N., Walter, C., & Berglundh, T. (2006). Ätiologie, Diagnostik und Therapie der Periimplantitis—eine Übersicht. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift*, 61(12), 642-649.
- Zitzmann, N. U., & Berglundh, T. (2008). Definition and prevalence of peri-implant diseases. *J. Clin. Periodontol.*, 35(8 Suppl), 286-291.
- Zitzmann, N. U., Berglundh, T., Ericsson, I., & Lindhe, J. (2004). Spontaneous progression of experimentally induced periimplantitis. *J. Clin. Periodontol.*, 31(10), 845-849.
- Zitzmann, N. U., Berglundh, T., Marinello, C. P., & Lindhe, J. (2001). Experimental peri-implant mucositis in man. *J. Clin. Periodontol.*, 28(6), 517-523.

EK-1



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 83116987 - 252
Konu : Etik Kurul Kararı
Toplantı Tarihi : 19.02.2019
Toplantı No : 2019/02
Proje No : 19-KAEK-028

20.03.2019

Sayın, Dr. Öğretim Üyesi Özkan KARATAŞ

Etik Kurulumuzun 19.02.2019 tarihli toplantısında görüşülen 19-KAEK-028 kayıt numaralı **“Hastalıklı ve Sağlıklı İmplant Çevresi Dişeti Bağ Dokularının HIF-1a, Smad3 ve FOXO4 Seviyelerinin Belirlenmesi”** başlıklı çalışmanız gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.

İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmeliğin 14-4. maddesi ve yönergemizin 18-3. maddesine göre çalışmanız tamamlandıktan sonra sonuç raporunun tarafımıza en geç 90 gün içerisinde bildirilmesi gerekmektedir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Doç.Dr. Faruk KUTLUTÜRK
Başkan

EK-2

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**Araştırmacının/Hekimin Açıklaması**

İmplant çevresi hastalıklı dişetinin, diş çevresi dokularla karşılaştırıldığında gerek periodontal hastalık gerekse cerrahi müdahale sonrasında bağ doku kompozisyonundaki değişiklikler nedeniyle yara iyileşmesi ve oksijenlenme açısından daha dezavantajlı olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle hastalıklı ve sağlıklı implant çevresi dişeti bağ dokularındaki iyileşme biyobelirteçlerini karşılaştırarak implant ve diş çevresi yumuşak dokular arasındaki benzerlikleri ve farklılıkları incelemek için araştırma yapmayı planlamaktayız. Yapılması planlanan araştırmanın ismi “Hastalıklı ve sağlıklı implant çevresi dişeti bağ dokularının HIF-1 α , Smad 3 ve FOXO4 seviyelerinin belirlenmesi” dir.

Tokat Gaziosmanpaşa Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalına tedavi olmak üzere gelen medikal anamnezinde sistemik hastalık hikayesi olmayan, çekim endikasyonu konulmuş 20 yaş diş, kron boyu uzatma ve/ya gingivektomi endikasyonu konulmuş olan ve/veya periodontitis, periimplant mukozitis, periimplantitis teşhisi (sağlıklı grup hariç) nedeniyle klinik takibi yapılan hastalar üzerinde uygulanacak olan bu çalışmaya, tıbbi durumunuz bu koşullara uyduğu için sizi de davet ediyoruz. Ancak hemen belirtilmelidir ki araştırmaya katılıp katılmamak gönüllülük esasına dayalıdır. Bu bilimsel çalışmaya katılma kararını tamamen hür iradeniz ile vermelisiniz. Bu kararı verirken hiç kimse tarafından size telkin ve baskıda bulunulamaz.

Kararınızdan önce söz konusu bilimsel araştırma ve bu araştırmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda yapılacak işlemler hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu

Araştırmanın adı:

Araştırma sorumlusu:

Tarih:

İmza:

bilgileri okuyup anladıktan sonra bu bilimsel araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bilimsel çalışma hakkında bilgiler

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni, 18-50 yaş aralığında, periodontitis, periimplant mukozitis, periimplantitis (sağlıklı grup hariç) tanısı konmuş bir birey olmanızdır. Bu araştırma Periodontoloji Anabilim Dalı, Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı işbirliği ile gerçekleştirilecektir.

İmplant çevresi hastalıklı ve sağlıklı diş eti dokusu, diş çevresindeki dokudan içerdiği fibroblast, enflamatuvar hücreler ve kollajen miktarı itibarıyla farklılık gösterebilir. Bu durumun en olası nedenlerinden biri ise, implantın yerleştirilebilmesi için diş etinin en az bir kez cerrahi işleme maruz kalarak yapısal bütünlüğünün bozulmasıdır. Cerrahi sonrasında bağ dokusunda klinik olarak iyileşme gözlense bile, iyileşen bağ dokusunun orijinal hücre ve kollajen içeriğine aynen sahip olmadığı çalışmalarla gösterilmiştir. Ek olarak diş çevresindeki yumuşak dokularda damarsal destek periost, diş eti ve periodontal ligamentten dolayı daha bol miktardayken, implant çevresinde damarsal destek periodontal ligament yokluğu nedeniyle daha azdır.

Bu da beslenme ve oksijenlenmede olası bir azalmaya neden olabilmektedir. Hastalıklı ve sağlıklı implant çevresi diş eti bağ dokularındaki iyileşme biyobelirteçlerini karşılaştırarak implant ve diş çevresi yumuşak dokular arasındaki benzerlikleri ve farklılıkları araştırmak için diş eti örnekleri alınacak ve RT-PZR analizi ile FOXO4, Smad 3, FGF-7, HIF-1 α , VEGF ve prolil hidrokasilaz ekspresyonları tespit edilecektir. Histolojik analizlerle de FGF-7 ve Smad 3 ekspresyonları tespit edilecektir.

Araştırmamanın adı:

Araştırma sorumlusu:

Tarih:

İmza:

Diş eti örnekleri: Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji bölümüne tedavi amacıyla başvuran hastaların, rutin faz 1 tedavilerine başlanacaktır (detertraj ve subgingival küretaj). Periimplantitis, Periimplant mukozitis ve periodontitis teşhisi olan hastalara uygulanan tedaviler sırasında hastalıklı diş eti eksize edilerek uzaklaştırılır (rutin tedavi). Uzaklaştırılan hastalıklı diş eti bu araştırma projesinde örnek olarak alınacaktır. Hastaların diş eti sağlığını olumsuz etkileyecek herhangi bir işlem yapılmayacaktır. Tedavi sırasında atılacak olan hastalıklı diş eti örnek olarak kullanılacaktır. Herhangi bir diş eti rahatsızlığı olmayan sağlıklı hastalardan alınacak örnekler ise yine aynı şekilde hastaların diş eti sağlığını etkilemeyecek şekilde alınacaktır. Sağlıklı gruptaki örnekler; çekilmesi gereken 20 yaş dişlerinden, diş eti büyümesi olan hastalardan (eksize edilip atılan diş eti) ve dişlerin görünürlüğü arttırmak için yapılan estetik kron boyu operasyonu sırasında eksize edilip atılan diş eti örnek olarak kullanılacaktır.

Çalışma kapsamında bilinmesi gereken durumlar ve araştırmacılar ile gönüllülerin uyması gereken kurallar

Araştırmaya katılmanız durumunda:

1. Sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir.
2. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme yapılmayacaktır.
3. Hekim ile aranızda kalması gereken size ait bilgilerin gizliliğine büyük özen ve saygı gösterilecektir.
4. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgileriniz çok büyük bir hassasiyetle korunacaktır.

Araştırmanın adı:

Araştırma sorumlusu:

Tarih:

İmza:

5. Çalışma sırasında meydana gelebilecek sağlınız ile ilgili ve diğer olumsuzlukların sorumluluğu araştırmacılara aittir.
6. Gönüllü olarak katıldığınız çalışmanın herhangi bir aşamasında araştırmadan ayrılabilirsiniz. Ancak ayrılmadan önce araştırmacılara bu durumu bildirmeniz önemlidir.
7. Çalışmaya katılmayı kabul etmemeniz durumunda tedavinizde ve klinik izlemelerinizde hiçbir değişiklik olmayacak, her zaman olduğu gibi aynı özen ve ihtimam ile hastalığınızın tedavisi sürdürülecektir.

Katılımcının (Gönüllü) / Hastanın Beyanı

Sayın Dt Emre LAFCI tarafından, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarı ve Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Laboratuvarında işbirliği ile bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler tarafıma aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam, hekim ile aramda kalması gereken, bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı gösterileceği, araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı kesin ve net bir şekilde belirtilmiştir.

Katılımcı (Gönüllü)

Tarih

Adı, Soyadı :
Adres :
Telefon :
İmza :

Araştırmanın adı:

Araştırma sorumlusu:

Tarih:

İmza:

Görüşme Tanığı

Adı, Soyadı :

Adres :

Telefon :

İmza :

Katılımcı (Gönüllü) ile Görüşen Araştırmacı

Adı, Soyadı, Ünvanı :

Adres :

Telefon :

İmza

(Tüm sayfaları imzalı bu formun bir kopyası katılımcıya verilecektir)

Araştırmanın adı:

Araştırma sorumlusu:

Tarih:

İmza: