

RÜMEYSA CİHANGİR

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2021

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

(DOKTORA TEZİ)

**SİGARA İÇEN GİNGİVİTİS HASTALARININ KLİNİK
ÖLÇÜMLERİNİN VE DİŞ ETİ OLUĞU SIVISINDAKİ
NÖTROFİL ENZİMİ SEVİYELERİNİN SİGARA
İÇMEYEN GİNGİVİTİS HASTALARIYLA
KIYASLANARAK İNCELENMESİ**

RÜMEYSA CİHANGİR

**DANIŞMAN
PROF. DR. FUNDA YALÇIN**

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
PERİODONTOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2021

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Eğitim hayatım boyunca bilimin ışığıyla doğru yolu gösteren ve üzerimde emeği olan tüm öğretmenlerime,

Doktora eğitimim boyunca, hekimliği olduğu kadar erdemli bir insan olmayı da en güzel şekilde öğreten, her zaman örnek aldığım ve alacağım çok sevgili ve saygıdeğer tez danışmanım Prof. Dr. Funda YALÇIN'a,

Tez çalışmamda olduğu kadar klinik eğitimimde de tecrübelerini ve bilgilerini benimle paylaşan, yardımını hiçbir zaman esirgemeyen çok sevgili ve kıymetli ablam Doç. Dr. Ülkü BAŞER'e,

Doktora eğitim hayatım boyunca üzerimde emeği olan çok değerli Prof. Dr. M. Utku ONAN, Prof. Dr. A. Gülden IŞIK, Prof. Dr. Serdar ÇİNTAN, Prof. Dr. H. Erhan FIRATLI, Prof. Dr. Korkud DEMİREL, Doç. Dr. Ali ÇEKİCİ, Doç. Dr. Duygu YAMAN, Doç. Dr. Emine ÇİFCİBAŞI, Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KASNAK, Prof. Dr. Serdar YALÇIN, Doç. Dr. Hümeysra KOCAELLİ ARIKAN'a,

Tez çalışmamın biyokimyasal analizinin yürütülmesinin yanı sıra her anlamda beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Canan KÜÇÜKGERGİN'e, bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren Prof. Dr. Semra ABBASOĞLU, Doç. Dr. A. Fatih AYDIN ve İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın tüm çalışanlarına,

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nın tüm çalışanlarına, hemşirelerine, çok sevgili ve kıymetli ablam Ayşe Gül GÜRLER'e, Çiğdem ablama, Ayten ablama, Murat abime, tüm çalışma arkadaşlarıma ve bende ki yeri bambaşka olan mavi klinik ekibime,

Beni her zaman destekleyen sevgili annem, babam, kardeşim, canım ailem ve sevgili dostlarıma,

Bu yolda birlikte yürüdüğümüz, her zaman yanımda olan, varlığından güç aldığım en önemli desteğim, yol arkadaşım, çok sevgili eşim Rüçhan'a teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 34371

İÇİNDEKİLER

DOKTORA TEZİ ONAYI	İİ
İTHAF.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİ
RESİMLER LİSTESİ	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET.....	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periodontal Sağlık ve Hastalık.....	4
2.1.1. Periodonsiyum	4
2.1.2. Periodontal Sağlık	4
2.1.3. Periodontal Hastalıklar.....	5
2.1.4. Diş Eti Hastalıkları.....	9
2.2. Konak Bağışık Yanıtı.....	17
2.2.1. Hücreler ve Mediatörler	17
2.2.2. Nötrofillerin ve Enzimlerinin Periodontal Hastalıktaki Rolü	26
2.2.3. Diş Eti Oluk Sıvısı	28
2.3. Sigara	29
2.3.1. Nikotin ve Genel Etkileri	30
2.3.2. Nikotin ve Konak Bağışık Yanıtı.....	31
2.3.3. Sigaranın Periodontal Dokulara Etkisi.....	32
2.3.4. Sigaranın Periodontal Hastalıklara Etkisi	33
2.3.5. Sigara ve Periodontal Tedavi	34
2.3.6. Sigarayı Bırakmanın Periodontal Dokulara ve Tedaviye Etkisi	35
2.3.7. Sigaranın Yaşam Kalitesine Etkileri	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37

3.1. Örneklem Seçimi	37
3.2. Çalışma Planı	37
3.3. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri	38
3.4. Çalışma Dışında Tutulma Kriterleri.....	38
3.5. Klinik İndeksler ve Ölçümler.....	38
3.5.1. Plak İndeksi (PI).....	39
3.5.2. Gingival İndeks (GI)	39
3.5.3. Sondalanabilir Cep Derinliği (SCD)	40
3.5.4. Sondalamada Kanama (SK)	40
3.5.5. Diş Eti Kenar Konumu (DKK)	40
3.5.6. Klinik Ataşman Düzeyi (KAD)	40
3.5.7. DMFT İndeksi.....	40
3.6. Gingivitis Tanısı.....	41
3.7. Araştırmanın Akışı.....	41
3.8. Diş Eti Oluk Sıvısının Toplanması	42
3.9. Biyokimyasal Değerlendirme	46
3.9.1. DOS Örneklerinde Belirleyici Düzeylerinin Ölçümü.....	46
3.9.2. Yöntemin Prensibi.....	47
3.10. İstatistiksel Değerlendirme	48
4. BULGULAR.....	49
4.1. Demografik Veriler	49
4.2. Ağız Bakım Alışkanlıkları	53
4.3. Klinik Ölçüm Verileri	57
4.4. DOS'ta Enzim Düzeyleri	61
5. TARTIŞMA	80
5.1. Gereç ve Yöntemin Tartışması	80
5.2. Bulguların Tartışması.....	84
6. SONUÇLAR	93
KAYNAKLAR	95
FORMLAR	140
GÖNÜLLÜ ONAY FORMU	142
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	146

TABLolar LİSTESİ

- Tablo 2-1: Periodontal hastalık sınıflamasının evrimi
- Tablo 2-2: 1999 Periodontal hastalıklar sınıflaması
- Tablo 2-3: 2017 Periodontal ve peri-implanter hastalık ve durumlar sınıflaması
- Tablo 2-4: Gingivitis olgusunun tanımlanma yöntemleri
- Tablo 2-5: Sağlıklı diş eti ve dental plak kaynaklı gingivitisin diagnostik kriterleri
- Tablo 2-6: Gelskey tarafından derlenen Hill kriterleri
- Tablo 4-1: Araştırmaya dahil edilen tüm bireylerin demografik verilerinin dağılımı
- Tablo 4-2: Kontrol ve test gruplarının demografik özellikleri
- Tablo 4-3: Kontrol ve test grubunu yaş ve BKİ dağılımı
- Tablo 4-4: Araştırmaya katılan hastaların sigara kullanım yılı ve miktarları
- Tablo 4-5: Kontrol ve test gruplarında ağız bakım alışkanlıkları dağılımı
- Tablo 4-6: Araştırmaya dahil edilen bireylerin klinik ölçüm verileri
- Tablo 4-7: Kontrol ve test gruplarında klinik ölçüm verilerinin dağılımı
- Tablo 4-8: Araştırmaya dahil edilen hastaların üst ve alt diş enzim düzeyleri
- Tablo 4-9: Kontrol ve test gruplarının üst ve alt diş enzim düzeylerinin kıyaslanması
- Tablo 4-10: Araştırmaya dahil edilen hastaların ortalama enzim düzeyleri
- Tablo 4-11: Kontrol ve test gruplarının ortalama enzim düzeylerinin kıyaslanması
- Tablo 4-12: Üst diş enzim düzeyleri ile klinik ölçüm verilerinin korelasyonu
- Tablo 4-13: Alt diş enzim düzeyleri ile klinik ölçüm verilerinin korelasyonu
- Tablo 4-14: Ortalama enzim düzeyleri ile klinik ve demografik verilerin korelasyonu
- Tablo 4-15: Enzim düzeylerinin birbiriyle olan korelasyonları
- Tablo 4-16: Test grubunda enzim düzeyleri ile sigara kullanım yılı ve miktarı arasındaki korelasyonlar

RESİMLER LİSTESİ

Resim 3-1. Sartorius® analitik hassas terazi

Resim 3-2. Hassas terazinin gösterge paneli

Resim 3-3. Periopaper® kağıt stripler

Resim 3-4. Periopaper® kağıt stripler

Resim 3-5. Eppendorf™ tüp



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1. Oksidatif patlama

Şekil 3-1. Araştırmanın akış şeması

Şekil 4-1. Araştırmaya dahil edilen hastaların cinsiyet dağılımı grafiği

Şekil 4-2. Sigara kullananların kullanım yılı ve kullanım miktarları dağılım grafikleri

Şekil 4-3. Günlük diş fırçalama dağılımı

Şekil 4-4. Arayüz bakımı dağılımı

Şekil 4-5. Arayüz bakımı yapanların kullandığı arayüz bakım ajanı dağılımı grafikleri

Şekil 4-6. Kontrol ve test gruplarının klinik parametrelerinin kıyaslanması grafiği

Şekil 4-7. Kontrol ve test gruplarının üst ve alt diş MPO düzeylerinin kıyaslanması grafiği

Şekil 4-8. Kontrol ve test gruplarının üst ve alt diş BGD düzeylerinin kıyaslanması grafiği

Şekil 4-9. Kontrol ve test gruplarının üst ve alt diş NE düzeylerinin kıyaslanması grafiği

Şekil 4-10. Kontrol ve test gruplarının ortalama enzim düzeylerinin kıyaslanması grafiği

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

MDP	: Mikrobiyal Dental Plak
DOS	: Diş Eti Oluk Sıvısı
PDL	: Periodontal Ligaman
PMNL	: Polimorfonüveli Lökosit
ICAM-1	: Intersellüler Adezyon Molekülü
G-CSF	: Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktör
IL-17	: İnterlökin-17
TGF- β	: Transforming Growth Factor- β
IL-10	: İnterlökin-10
IL-23	: İnterlökin-23
MMP-9	: Matriks Metalloproteinaz-9
TNF- α	: Tümör Nekrozis Faktör- α
IL-8	: İnterlökin-8
LPS	: Lipopolisakkarit
NET	: Nötrofil Ekstrasellüler Tuzak (Neutrophil Extracellular Trap)
PAMP	: Kalıp tanıma reseptörü (Pattern-Recognition Receptor)
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
MPO	: Myeloperoksidaz
NE	: Nötrofil Elastaz
BGD	: Beta-Glukuronidaz
MÖ	: Milattan Önce
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
LD50	: Ölümcül Doz (Lethal Dose)
OHRQoL	: Ağız Sağlığı İle İlişkili Yaşam Kalitesi
ISO	: Uluslararası Standartlar Örgütü
BKİ	: Beden Kütle İndeksi
PI	: Plak İndeksi
GI	: Gingival İndeks
SK	: Sondalamada Kanama

SCD	: Sondalanabilir Cep Derinliği
DKK	: Diş Eti Kenar Konumu
MSS	: Mine-Sement Sınırı
KAD	: Klinik Ataşman Düzeyi
DMFT	: Çürük, Kayıp, Dolgulu Diş İndeksi
CPI	: Community Periodontal Index (Toplum Periodontal İndeksi)
CPITN	: Community Periodontal Index of Treatment Needs
OHI	: Oral Hijyen İndeksi
BSA	: Bovin Serum Albumin (Bovine Serum Albumin)
PBS	: Fosfat Tampon Tuz (Phosphate Buffer Saline)
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
HRP	: Horseradish Peroksidaz
Ort.	: Ortalama
SS	: Standart Sapma
Med.	: Medyan
Min.	: Minimum
Maks.	: Maksimum
lm/dk	: lümen/dakika
g	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
ng	: Nanogram
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
U	: Ünite
°C	: Santigrat Derece
vb.	: Ve Benzeri
~	: Yaklaşık
±	: Artı Eksi
ark.	: Arkadaşları

ÖZET

Cihangir, R. (2021). Sigara İçen Gingivitis Hastalarının Klinik Ölçümlerinin ve Diş Eti Oluğu Sıvısındaki Nötrofil Enzimi Seviyelerinin Sigara İçmeyen Gingivitis Hastalarıyla Karşılaştırılarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji AD. Doktora Tezi. İstanbul.

Dental plağın periodontal hastalık patogeneziindeki rolü bilinmekle birlikte, plağa karşı gelişen konak yanıt üzerinde etkili olan sigara gibi risk faktörlerinin önemi de yapılan çalışmalarla aydınlatılmaya devam etmektedir. Kesitsel gözlemsel çalışmamızda, tanısı 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması'na göre konmuş sigara içen gingivitisli bireylerin klinik ölçümlerinin ve diş eti oluğu sıvısındaki (DOS) myeloperoksidaz, nötrofil elastaz ve beta-glukuronidaz seviyelerinin, sigara içmeyen gingivitisli bireylerle karşılaştırarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma grubu, sistemik olarak sağlıklı 18-25 yaş aralığındaki plağa bağlı gingivitis teşhisi konan 60 hastadan (39 sigara içen test grubu ve 21 sigara içmeyen kontrol grubu) oluşmaktadır. Çalışmaya dahil edilen hastaların tıbbi ve dental anamnezinin alınmasını takiben tüm dişlerin altı yüzeyinden gingival indeks, plak indeksi, sondalamada kanama, sondalanabilir cep derinliği ve klinik ataşman düzeyi ölçümleri yapılmıştır. DOS örnekleri sağ üst ve sol alt kanin dişlerinin distalinden kağıt striplerle toplanmıştır. Tüm ekipmanlar her aşamada hassas terazi ile tartılmıştır. Toplanan örnekler ELISA testi ile incelenmek üzere -80 °C'de bekletilmiştir.

Test grubunda, plak indeksi, gingival indeks ve sondalamada kanama istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Sondalanabilir cep derinliği ve klinik ataşman düzeyinde iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Test grubunda, DOS'taki myeloperoksidaz, beta-glukuronidaz ve nötrofil elastaz düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Üst ve alt dişler ayrı olarak ele alındığında, tüm enzimler alt dişlerde test grubunda anlamlı ölçüde yükselirken, üst dişlerde, tüm enzimlerde test grubunda görülen artış yalnızca beta-glukuronidaz için anlamlılık göstermektedir.

Çalışmamızda, sigara ile gingivitisin klinik bulguları ve DOS nötrofil enzimleri arasında bir ilişki olduğu görülse de, daha kapsamlı araştırmalarla bu sonuçların desteklenmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: sigara, gingivitis, diş eti oluk sıvısı, nötrofil, enzim-bağlı-immün assay

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 34371

ABSTRACT

Cihangir, R. (2021). Comparative Evaluation of Effects of Tobacco Smoking on Clinical Measurements and Neutrophil Enzyme Levels in GCF in Gingivitis. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Periodontology. PhD Thesis. İstanbul.

Although the role of dental plaque in the pathogenesis of periodontal disease is known, the importance of risk factors, such as smoking, which affect the host response to plaque has been demonstrated by recent studies. In our cross-sectional observational study, it has aimed to comparatively evaluate the clinical measurements and neutrophil enzyme levels in GCF, which are myeloperoxidase, beta-glucuronidase and neutrophil elastase between smokers and non-smokers with gingivitis which diagnosed based on 2017 Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions.

The study population consisted of 60 subjects (39 smokers as control group and 21 non-smokers as test group) diagnosed with dental plaque biofilm-induced gingivitis with age range 18-25 and state of systemic health. Following medical and dental anamnesis, gingival index, plaque index, bleeding on probing, probing depth, and clinical attachment level measurements were performed on six surfaces of teeth. GCF samples were collected from distal sites of the right maxillary and left mandibular canines using paper strips. All equipment was weighed using analytical balance at each phase. Collected samples were kept at -80 °C until assayed by means of ELISA.

Plaque index, gingival index, and bleeding on probing were significantly increased in the test group. Probing depth and clinical attachment levels showed no significant difference between the two groups. Myeloperoxidase, beta-glucuronidase, and neutrophil elastase levels in GCF were significantly increased in the test group. All enzyme levels of mandibular samples were significantly increased in the test group when maxillary and mandibular enzyme levels were evaluated separately. All enzyme levels of maxillary samples were increased in the test group but only the increase for beta-glucuronidase levels was significant.

Despite that our study has shown the link between smoking and clinical findings of gingivitis through neutrophil enzymes in GCF, it needs to be supported by further investigation.

Key Words: smoking, gingivitis, gingival crevicular fluid, neutrophil, enzyme-linked immunosorbent assay

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 34371

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gingivitis, diş etinin inflamatuvar durumu olup, diş eti oluşunda veya oluşa yakın alanda biriken mikrobiyal dental plaktan (MDP) kaynaklanır¹. Diğer tüm lokal ve sistemik etyolojik faktörler ya plak birikimini ya da diş eti dokusunun mikrobiyal atağa karşı duyarlılığını artırır. Hastalığın patogenezi, başlangıç lezyonu, erken lezyon ve yerleşik lezyon olmak üzere ayrı safhalarda incelenir².

Konak yanıtı ile mikrobiyal etkenler arasındaki dengenin konağın aleyhine kayması sonucu gelişen inflamasyonun ilk safhası, başlangıç lezyonudur. Başlangıç lezyonu, nötrofil infiltrasyonunun baskın olduğu akut inflamatuvar yanıttır³. Gingivitiste periodontitisten farklı olarak, periodontopatojenlerden ziyade konağın bağışık yanıtı büyük önem kazandığından, doğal bağışık yanıtın kılavuz elemanı olan nötrofillere büyük görev düşmektedir.

Nötrofil homeostazisi, periodontal sağlık açısından anahtar görevi görmektedir. Bulgular, sağlıklı diş eti dokusundaki homeostatik bağışıklığın sağlanabilmesi için nötrofillerin gerekli olduğu kadar, fazla miktarda aktivite göstermeleri halinde lezyonun başlamasında ve hastalığın ilerlemesinde rol oynadıklarını da ortaya koymuştur⁴. Nötrofillerin periodontal dokuda homeostasis için oynadığı hayati rol, nötrofil defektli bireylerdeki klinik tablo ile de desteklenmektedir³. Diğer bir deyişle, nötrofiller, varlığı ve yokluğuyla periodontitise yol açma potansiyeline sahiptirler⁵.

Page ve Schroeder Modeli'ne göre, periodontal lezyon, diş eti oluşundan bağlantı epiteline doğru artan nötrofil göçü ile başlar. Güncel bilgiler, nötrofillerin yalnızca periodontal hastalığı başlatmakla kalmadığını, aynı zamanda yerleşik ve ileri lezyonda yardımcı T hücrelerinin, B lenfositlerinin ve plazma hücrelerinin kümelenmesini uyarak hastalığın ilerlemesinde de rol aldığını öne sürmektedir⁶. Nötrofillerin savunma mekanizmalarından biri de granüllerinde muhafaza ettikleri proteolitik enzimleridir. Myeloperoksidaz, beta-glukuronidaz ve nötrofil elastaz, nötrofil savunmasında önemli rol oynayan nötrofil enzimleri olup, gösterdikleri proteolitik aktivitenin fazla miktarda görülmesi durumunda dokulardaki homeostatik hal konak aleyhinde değişebilmektedir. Periodontal hastalık görülen bireylerde bu enzimlerin DOS'taki seviyelerinde artış rapor edilmiş ve bu enzimlerin periodontal hastalığın teşhisinde potansiyel bir belirteç olabileceği öne sürülmüştür⁴.

Gingivitis, tedavi başarısı oldukça yüksek olmasına karşın tanısı yeterince erken konamadığında, yaşam kalitesini ve genel sağlığı olumsuz etkileyebilecek sonuçlara sebebiyet verebilir. Bu yüzden periodontal hastalıklar arasında kritik bir yere sahiptir. Periodontitise geçişte bir basamak olmasından ötürü, gingivitisin atlanmaması büyük önem taşır. Fakat radyografik bulgu vermediğinden ve teşhisi yalnızca klinik tanıya bağlı olduğundan, diagnostik açıdan periodontitiste olduğu gibi objektif ve standardize edilmiş yöntemlerden yoksundur. Bunun yanı sıra, gingivitiste spesifik olmayan mikrobiyota etkin olduğundan, periodontitiste faydalanılan mikrobiyolojik diagnostik teknikler gingivitiste tercih edilememektedir. Bu yüzden teşhiste yardımcı kriter olarak biyokimyasal değerlendirme gündeme gelmektedir.

Gingivitiste olgu tanımının sınırları her ne kadar 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması⁷ ile netleştirilmiş olsa da, gingivitisin başlangıcını tayin etmek mümkün olmaz. Bu nedenle gingivitisin biyokimyasal monitörizasyonu gündeme gelmektedir. Periodontal hastalık aktivitesinin bir göstergesi olarak diş eti oluğu sıvısındaki (DOS) biyokimyasal parametrelerin kullanımını öneren çalışmalar⁸⁻¹¹ olmuştur. Fakat bu yöntemlerin klinik uygulamaya dahil edilebilmesi için bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır ve çalışmamızın motivasyonlarından biri de budur.

Genel sağlık için bir risk faktörü olduğu genel kabul görmüş ve kullanımı oldukça yaygın görülen sigara, 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması'nda da gingivitisi modifiye edici faktörlerden biri olarak yer almıştır⁷. Epidemiyolojik çalışmalar, sigaranın periodontal hastalık için yaşam tarzıyla ilişkili en önemli çevresel faktörlerden biri olduğunu ortaya koymuştur¹².

Solunan sigara dumanı, kapillerlerden absorbe edilerek pulmoner alveoler epitel aracılığıyla sistemik dolaşıma katılırken, dumana direkt olarak maruz kalan periodontal dokuların mikrovasküler yapısında görülen vazokonstriksiyon ise gingival fibrozise sebep olur ki bu sigara içenlerde oldukça sık rastlanan bir durumdur¹³. Gingival fibrozis nedeniyle diş etinde ödem, renk değişikliği, DOS miktarında artış, sondalamada kanama görülür¹⁴⁻¹⁶. Sigara içenlerde plak birikimi ve hastalık ilerleyişi daha şiddetli görülebilir diş eti inflamasyonunda daha az semptom ve klinik bulguya rastlanır. Buradan da yola çıkarak gingivitisli bireylerde sigaranın diş eti inflamasyonundaki kanama yanıtını baskılayıp gingivitisi maskeleydiği sonucuna varan çalışmalar¹⁷⁻²⁰ olmasına karşın, denge

halinde sondalamada kanama ihtimalini arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur^{21,22}. Nikotin lazer doppler akımölçer ile diş etinin kanlanmasına olan etkisini araştıran çalışmalarda^{23,24}, sigara içildiği anda diş etinin kan akışında herhangi bir değişiklik bulunmadığı ya da akışın arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuçlar, sigaranın akut ve kronik etkilerinin farklı olabileceğine²³ ve sigaraya bağlı artan kan basıncının sigaranın vazokonstriktif özelliğini etkisiz kıldığına²⁴ bağlanmaktadır. Bu çalışmada, diş etinin kanlanmasını olumsuz etkilediği varsayılan sigaranın bilinen etkileriyle, gingivitis üzerindeki etkilerinin örtüşüp örtüşmediği araştırılmaktadır.

Gingivitis, literatürdeki mevcut çalışmaların zenginliği açısından periodontitis kadar aydınlatılmadığından yeni çalışmalara ihtiyaç büyüktür. Literatürde sigara kullanımının periodontal durum üzerine etkisini inceleyen çok sayıda epidemiyolojik ve uzun süreli çalışma olmasına karşın gingivitise olan etkisini nötrofil enzimleri bazında değerlendiren çalışma sayısı azdır. Gingivitis hastalarında myeloperoksidaz, beta-glukuronidaz ve nötrofil elastazın birlikte incelendiği bir çalışmaya ise rastlanmamıştır. Literatürdeki bu eksiği gidermek adına gingivitis üzerine çalışmak hedeflenmiştir.

Çalışmamızda, tanısı 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması⁷ esas alınarak konulan plağa bağlı gingivitis hastalarında sigara kullanımının klinik bulgular ve DOS'taki nötrofil enzimleri üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmış olup, sigara bağımsız değişken tutularak vaka ve kontrol grupları oluşturulmuştur. Demografik veriler, ağız bakım alışkanlıkları, klinik parametreler ve DOS'taki nötrofil enzimi seviyeleri bağımlı değişkenler olarak incelenmiştir.

Kesitsel olarak tasarlanan çalışmamızın hipotezleri şöyle sıralanabilir:

- i. Sigara içen hastalarda DOS'taki nötrofil enzimi seviyelerinin artması,
- ii. Gingivitisin klinik belirtileri (klinik ölçüm verileri) ile DOS'taki nötrofil enzimi seviyelerinin paralel seyretmesi beklenmektedir.

Yukarıda ifade edilen hipotezlerden yola çıkarak çalışmamızın amacı; sigara kullanımının genç erişkinlerde gingivitis üzerine olan etkilerini incelemek ve sigara içen ile içmeyen hastaların DOS'taki MPO, BGD ve NE seviyelerini kıyaslamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Sağlık ve Hastalık

2.1.1. Periodonsiyum

Periodonsiyum, dişleri çevreleyen ve destekleyen dokular bütünüdür. Bu dinamik yapının kendine has damarsal yapısı, lenfatik sistemi ve oldukça özelleşmiş innervasyon ağı bulunur²⁵. Periodonsiyum, alveol kemiği, sement, periodontal ligaman (PDL) ve diş etinden oluşur²⁶. Her bir dokunun yapısı, anatomisi, bileşimi ve işlevi farklı olmakla beraber bir bütün halinde fonksiyon görürler²⁷.

2.1.2. Periodontal Sağlık

Sağlık, 1948 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından “sadece hastalıkların ve rahatsızlıkların olmaması durumu değil, fiziksel, sosyal ve ruhsal açıdan tam bir iyilik hali” olarak tanımlanmıştır²⁸. Bu tanıma göre, periodontal sağlık, inflamasyon görülmemesinin yanı sıra, normal fonksiyonları mümkün kılan ve geçmiş hastalıkların sonuçlarından zihinsel ve fiziksel olarak muzdarip olunmayan durum şeklinde de ifade edilebilir. Periodontal sağlık, çoğu zaman iltihabi infiltrasyon ile konağın bağışık yanıtı arasındaki denge ile sağlanır²⁹. Bağışıklık sisteminin, periodonsiyum sağlığını istikrarlı bir şekilde gözetim altında tuttuğu biyolojik bir rolü vardır. Klinik olarak sağlıklı bir diş eti, klinik ataşman ve kemik kaybının olmadığı bozulmamış bir periodonsiyumda bulunabileceği gibi, periodontitis geçmişi olan stabil bir ağızda veya periodontal cerrahiler sonrası azalmış bir periodonsiyumda da görülebilir. Klinik diş eti sağlığı, gingivitis veya periodontitisin tedavisi ile mümkün kılınabilir. Fakat tedavi edilen stabil bir periodontitis tablosu ve diş eti sağlığı, gelecekte meydana gelebilecek nüks için risk taşıdığından yakinen takip edilmelidir.

Periodontal sağlığın sürekliliğin sağlanması, hastalığın patogenezinde etkili olan faktörlerin iyi yönetilmesinden geçer. 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması'na⁷ göre periodontal sağlığın bileşenleri; supragingival plak ve subgingival biyofilm, konağın savunma mekanizması, lokal ve sistemik faktörler ve çevresel etkenlerdir. Normal şartlar altında subgingival biyofilm, komensal mikroorganizmaların ahenkli bir denge halinde bulunduğu bir çevre iken, bu çevrenin

bozulması, periodonsiyum dokularında inflamasyon oluşumu ile sonuçlanır³⁰. Gelişen inflamasyon ile birlikte dokularda oluşan disbiyoz hali, periodontal inflamasyonun şiddetlenmesine, mevcut mikroorganizmaların yerini münferit kabul edilen patojenlerin almasına sebep olur. Tüm bunların sonucunda konak yanıtın tetiklediği doku hasarı gerçekleşir³¹.

2.1.3. Periodontal Hastalıklar

2.1.3.1. Periodontal Hastalıkların Etiyolojisi

Periodontal hastalık, diş ve diş eti dokularını etkileyen çok bileşenli bir hastalık olup diş eti oluşunda veya oluşa yakın alanlarda biriken mikrobiyal dental plağın sebep olduğu inflamatuvar bir yanıttır. Hastalığın diğer tüm sistemik veya lokal etkenleri, ya dental plak biyofilmi birikimini ya da periodontal dokuların plağa karşı hassasiyetini artırarak inflamasyona sebep olur².

Gingivitis, spesifik olmayan subgingival mikrobiyotaya karşı verilen spesifik olmayan inflamatuvar yanıt olarak düşünülebilir^{31,32}. Plak birikiminin artışıyla gingivitisin şiddetlenmesi, dental plak biyofilmi ile diş eti hastalığı arasındaki pozitif ilişkiyi desteklemektedir³³. Loe ve ark.³⁴ tarafından yapılan deneysel çalışmalar, biriken dental plağın sebep olduğu diş eti inflamasyonunun, plak eliminasyonunu takiben çözünerek geri döndüğünü ortaya koymuştur. Buna karşın, etken ortadan kaldırılmadığında, gingivitisin, periodontitisin erken formu olabileceği görülmüştür³⁵.

Periodontal hastalığın, mikroorganizmalar ve konağın savunma mekanizması arasındaki dengenin bozulması ile görüldüğünün anlaşılmasının üzerine³², bağışıklık sistemi elemanlarının hastalığıdaki rolü daha da önem kazanmıştır³⁶. Periodonsiyumda görülen inflamatuvar yanıt, mikroorganizmalara karşı verilen doğal bağışıklık sisteminin hücresel ve humoral elemanlarının dahil olduğu fizyolojik bir yanıttır. İnflamasyonun akut fazında verilen cevap hızlı ve kısa sürelidir. Eğer etken ortadan kalkmaz ve inflamasyon çözünmezse verilen yanıt kronikleşir. Bu durum patolojik kabul edilir.

Enfeksiyon temizlenmezse inflamatuvar yanıtın kronikleşmesi, erken lezyon ile başlar. Kronikleşen inflamasyonda devreye kazanılmış bağışıklık sistemi elemanları da girer³⁷. İnflamasyonun akut fazında lezyon bölgesine ilk ulaşan hücreler nötrofillerdir.

İnflamatuvar yanıtın başlamasından itibaren inflamasyonda rol alan baskın hücreler de değişiklik göstermektedir.

Page ve Schroeder⁶, inflamasyon sürecinde periodonsiyumdaki histolojik değişiklikleri ilk, erken, yerleşik ve ileri lezyon olmak üzere 4 safhaya ayırır. İlk, erken ve yerleşik lezyonlar diş etinin iltihabi tablosunu, ileri lezyon ise ataşman kaybı ve alveol kemiği yıkımı ile gingivitisten periodontitise geçişi işaret eder.

Başlangıç lezyonu, mikroskobik olarak inflamasyon görülmeyen ve plaktan arınmış bir yüzeyde 2-4 günlük mikrobiyal dental plak birikimi sonrasında görülen, bölgedeki yerleşik lökositlerin ve endotelyal hücrelerin vermiş olduğu yanıttır. Subgingival biyofilm, varlığını her daim koruduğundan, diş eti dokuları düşük dereceli kronik inflamasyonun karakteristik özelliklerine sahiptir. Bu nedenle bu safhada klinik olarak inflamasyon bulgularına rastlanmaz fakat histolojik olarak dokuda bazı değişiklikler görülür. Düşük dereceli inflamasyon, nötrofil ve monositlerin birleşim epiteli ve sulkusa göçünü kolaylaştıran Intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve Endotelyal adezyon molekülünün (E-selektin) artışı ile görülen damar genişlemesi ve damar geçirgenliğinin artması ile karakterizedir. Damar genişlemesi sonucunda nötrofiller damarları terk ederek inflamasyon bölgesine göç eder. Damarlarda artan sıvı sızıntısı da mikrodolaşımdaki hidrostatik basıncı yükselterek DOS akışını artırır. DOS, bakteri ve ürünlerini yıkama ve seyreltme özelliğindedir ancak biyofilmin organize yapısı nedeniyle diş eti oluşunun artan DOS ile arınması mümkün olmaz. DOS sadece biyofilmin yapısına katılmamış serbest halde ortamda yüzen bakterilerin temizlenmesine olanak sağlayabilir. Bu safha yalnızca histolojik olarak gözlemlenebilir.

Erken lezyon, sürekli MDP birikimini takip eden yaklaşık 1 haftanın sonunda gelişir. Bağ dokusu içinde nötrofillerin sayıca artış göstermesi, makrofaj, lenfositler, plazma hücreleri ve mast hücrelerinin dahil olmasıyla seyreder. Kompleman proteinler aktive olur. Artan damar geçirgenliği ve çoğalan kapillerler sonucu diş eti eritemli bir görünüme sahiptir. Nötrofillere yer açmak için fibroblastlar apoptoz yoluyla dejenere olur ve bağlantı epitelinin apikalinde kolajen yıkımı görülür. Epitelyal bazal hücreler de bakterilere ve ürünlere karşı bir bariyer oluşturabilmek için apikale proliferer olur ve rete pegler oluşur. Bunun sonucunda ödem gelişir ve diş eti oluşu derinleşir. Subgingival biyofilm apikale doğru proliferer olarak bu bölgelerdeki plak kontrolünü zor

hale getirir. DOS akışında artış görülür. Bu safha süresiz devam edebilir ya da ilerleyebilir.

Yerleşik lezyon, doğal bağışık yanıtın kazanılmış bağışık yanıtı geçiş süreci olarak ifade edilebilir. Klinik olarak kronik diş eti iltihabı safhasıdır. Makrofajlar, plazma hücreleri, T ve B lenfositleri, inflamasyonun bu safhasında baskın hücrelerdir. Nötrofiller dokularda kümelenir ve lizozomal enzimlerini salarak diş etinde kolajen liflerinin yıkımına sebep olur. Bunun sonucunda diş eti oluğu derinleşir ve cep epitelinde ülserasyon görülür. Tüm bunların sonucunda gelişen sondalamada kanama, kronik gingivitisin yaygın bir özelliğidir. Diş etinde renk ve biçim değişiklikleri de görülür. Erken lezyondan yerleşik lezyona geçiş, dental plak biyofilminin miktarı ve bileşimi, konak ait faktörler, sistemik ve lokal risk faktörler birçok etkene bağlıdır. İnflamasyon bu safhada, etkin plak kontrolünün yapılmasıyla tamamen sağlıklı hale geri dönebilir durumdadır.

İleri lezyon, gingivitisten periodontitise geçiş safhasıdır. Bu geçiş, plak bileşiminden miktarına, konak yanıtından çevresel ve genetik risk faktörleri gibi pek çok etkene bağlanabilse de sebebi tam olarak bilinmemektedir. Klinik ve histolojik olarak geri dönüşümsüz ataşman ve kemik kaybı görülür. Bağlantı epitelinde kolajen yıkımının olduğu bölgelerde apikale göç görülür, lezyon derinleşir ve alveol kemiğini etkiler. Kemik, ilerleyen inflamasyondan kaçmak ve kemiğin bakterilerce kontamine olmasını engellemek için geri çekilir. Cep derinleştikçe bakteriler de çoğalmaları için elverişli bir ortama doğru apikale göç eder. Bu ortam aynı zamanda konak savunmasından daha az etkilendikleri bir ortamdır. Böylece kronik inflamasyon ve buna bağlı oluşan doku yıkımının sürekli hale geldiği bir döngü meydana gelir. Tüm bunların sonucunda etkili bir ağız temizliği de zorlaşmış olur.

2.1.3.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

İlk olarak 1977 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi (American Academy of Periodontology-AAP) tarafından yapılan periodontal hastalık sınıflamasında, periodontal hastalıklar 2 ana grup altında toplanmıştır. Bu sınıflama 1986, 1989 ve 1999 yıllarında revize edilmiş³⁹ (Tablo 2-1) ve uzun yıllar 1999 sınıflaması geçerli kabul edilmiştir⁴⁰ (Tablo 2-2). Günümüzde 2017 yılında yayınlanan Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması geçerlidir⁴¹ (Tablo 2-3).

Tablo 2-1: Periodontal Hastalık Sınıflamasının Evrimi³⁹

1977	1986	1989
I. Juvenil Periodontitis	I. Juvenil Periodontitis	I. Erken Dönem Periodontitis
II. Kronik Marjinal Periodontitis	A. Prepubertal Periodontitis	A. Prepubertal Periodontitis
	B. Lokalize Juvenil Periodontitis	1. Lokalize
	C. Generalize Juvenil Periodontitis	2. Generalize
	II. Yetişkin Periodontitisi	B. Juvenil Periodontitis
	III. Nekrotizan Ülseratif Gingivitis/Periodontitis	1. Lokalize
	IV. İnatçı Periodontitis	2. Generalize
		C. Hızlı İlerleyen Periodontitis
		II. Yetişkin Periodontitisi
		III. Nekrotizan Ülseratif Periodontitis
		IV. İnatçı Periodontitis
		V. Sistemik Hastalıklarla İlişkili Periodontitis

Tablo 2-2: 1999 Periodontal Hastalıklar Sınıflaması⁴⁰

1999
I. Diş Eti Hastalıkları
A. Plağa Bağlı Diş Eti Hastalıkları
B. Plağa Bağlı Olmayan Diş Eti Hastalıkları
II. Periodontal Hastalıklar
A. Kronik Periodontitis
a. Lokalize
b. Generalize
B. Agresif Periodontitis
a. Lokalize
b. Generalize
C. Sistemik Hastalıklarla Birlikte Görülen Periodontitisler
D. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
a. Nekrotizan Ülseratif Gingivitis
b. Nekrotizan Ülseratif Periodontitis
E. Periodonsiyum Abseleri
a. Gingival Abseler
b. Periodontal Abseler
c. Perikoronar Abseler
F. Endodontik Lezyonlarla Birlikte Görülen Periodontitis
G. Gelişimsel veya Kazanılmış Deformiteler

Tablo 2-3: 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması⁴¹

Periodontal Hastalık ve Durumlar			
Periodontal Sağlık, Diş Eti Hastalıkları ve Durumları		Periodontitis	Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar
- Periodontal sağlık ve diş eti sağlığı - Dental biyofilm kaynaklı gingivitis - Dental biyofilm kaynaklı olmayan diş eti hastalıkları		- Nekrotizan periodontal hastalıklar - Periodontitis - Sistemik bir hastalığın belirtisi olarak periodontitis	- Periodontal destek dokuları etkileyen sistemik durum ve hastalıklar - Periodontal abseler ve endo-perio lezyonlar - Mukogingival deformiteler ve durumlar - Travmatik oklüzal kuvvetler - Dental ve protetik faktörler
Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar			
Peri-İmplanter Sağlık	Peri-İmplanter Mukozitis	Peri-İmplantitis	Peri-İmplanter Sert ve Yumuşak Doku Yetersizliği

2.1.4. Diş Eti Hastalıkları

2.1.4.1. Gingivitis Olgusu Tanımı

Diş eti inflamasyonu, bilinen yöntemler⁴² esas alınarak tanısı kolayca konabilen bir hastalıktır. Diş eti oluşunun apikal sınırı, standart bir periodontal sond yardımıyla kontrollü kuvvet (~0,25 N) uygulanarak uyarıldığında kanama görülen (var/yok değerlendirmesi) yüzeylerin oranı (SK %), objektif bir tanı konmasına ve inflamasyonun derecelendirilmesine olanak sağlar.

Klinik tanı kriterlerinin hekim ve hasta kaynaklı bazı kısıtlamaları vardır. Kullanılan periodontal sondun kullanım açısı ve doğrultusu, uygulanan kuvvet gibi faktörler hekim kaynaklı, sigara kullanımı, diş eti biyotipi, ilaç kullanımı gibi faktörler de hasta kaynaklı kısıtlamalardır.

İlk olarak 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması'nda⁴¹ ortaya atılan *diş eti sağlığı* kavramı, farklı durumlar için farklı isimlerde karşımıza çıkmaktadır. Yine ilk olarak bu sınıflamada ortaya atılan

bozulmamış periodonsiyum ve azalmış periodonsiyum durumları için diş eti sağlığı ayrı olarak ele alınmaktadır.

Bozulmamış ve azalmış periodonsiyumda sağlıklı bir diş eti, sondalanabilir cep derinliği (SCD) değerlerinin 3 mm'den az ve sondalamada kanama (SK) miktarının %10'dan düşük olması şeklinde tanımlanır⁴³. Bozulmamış periodonsiyumda diş eti sağlığı, klinik olarak hiçbir gingivitis bulgusu görülmemesine ilave olarak tespit edilebilir ataşman ve/veya kemik kaybının olmayışı olarak ifade edilmiştir. Fizyolojik kemik seviyesi mine-sement sınırının 1 ile 3 mm apikalinde konumlanır. Klinik sağlık ise, sondalamada kanama, eritem, ödem, ataşman ve kemik kaybının olmaması ile karakterizedir.

Azalmış periodonsiyumda klinik sağlık, inflamasyon bulgularının olmamasına ilave olarak azalmış klinik ataşman ve kemik seviyeleri esas alınarak değerlendirilmelidir. Azalmış periodonsiyum iki şekilde görülebilir:

- Periodontitis geçmişi olmayan fakat diş eti çekilmesi ve kuren boyu uzatma gibi geçmişi olan hastalar,
- Başarılı bir tedavi uygulanarak stabilize edilmiş periodontitis hastaları.

Stabil periodontitis hastası, periodontitis için nüks riski taşıırken, periodontitis geçmişi olmayan azalmış periodonsiyumlu hastanın periodontitis için risk taşıdığını gösteren mevcut bir kanıt yoktur. Bu yüzden azalmış periodonsiyumlu stabil periodontitis hastası ile periodontitis geçmişi olmayan azalmış periodonsiyumlu hasta, klinik sağlık açısından ayrı ayrı ele alınmalıdır.

Periodontitis tedavisini takiben periodontitis hastalarında yukarıda ifade edilen kriterlere göre tam bir diş eti sağlığı elde edilemeyebilir. Fakat son bulgular, periodontal istikrara ulaşmanın mümkün olduğunu göstermektedir. Periodontal istikrar, başarılı bir periodontal tedaviye ek olarak lokal ve sistemik risk faktörlerinin kontrol altında tutulması ile mümkündür. Bunun için minimal SK (tüm yüzeylerin %10'undan az), hiçbir yüzeyde SCD'nin 4 mm ve üzerinde olmaması⁴³, periodontal doku yıkımının ilerlememesi ve diğer klinik parametrelerin optimum düzeyde iyileştirilmiş olması gerekir⁴⁴.

Periodontal dokuların sondalanmasında kullanılan standart ISO sondlarının ve tekniklerin getirdiği kısıtlamalar (sondun çapı, uygulanan kuvvet, sondalama süresi vb.)

nedeniyle sağlıklı bir periodonsiyuma sahip bir hastada, bir ya da iki yüzeyde diş eti inflamasyonunun klinik bulgularına rastlanabilir. Yer yer hafif ve gecikmiş kanama olması ağzın klinik olarak sağlıklı kabul edilmesine engel değildir⁴³.

Diş eti hastalığı iki kategoride incelenir:

- Dental plak biyofilmi kaynaklı gingivitis
- Dental plak kaynaklı olmayan gingivitis

Dental plak biyofilmi kaynaklı gingivitis, MDP ile konağın immün-inflamatuvar cevabı arasındaki etkileşimler sonucu oluşan inflamatuvar lezyondur. Diş eti ile sınırlı olup diğer periodonsiyum dokularını kapsamaz ve MDP eliminasyonu ile geri dönebilir.

Diş eti hastalığı da diş eti sağlığı gibi farklı koşullarda görülmesine göre farklı isimlendirilir:

- Bozulmamış periodonsiyumda gingivitis
- Azalmış periodonsiyumlu periodontitis geçmişi olmayan hastada gingivitis
- Azalmış periodonsiyumlu stabil periodontitis hastasında gingivitis

Gingivitis, diş eti kenarının apikalinde MDP birikimine bağlı olarak görülen spesifik olmayan iltihabi durumdur⁴⁵. Longitudinal çalışmalar, daha şiddetli diş eti inflamasyonu görülen yüzeylerde, uzun vadede daha fazla ataşman kaybı görüldüğünü ortaya koydu⁴⁶⁻⁵². Bu bilgiler, gingivitisin periodontitis için büyük bir risk faktörü olduğu ve periodontitis için altyapı hazırladığını göstermektedir. Gingivitisin erken teşhisi ve güvenilir şekilde yönetilmesi, periodontitisin önlenmesinde izlenecek en önemli yoldur.

2.1.4.2. Gingivitis Tanı Kriterleri

Gingivitis olgusunun teşhisinde evrensel hemfikirlik gereklidir. Mevcut epidemiyolojik veriler, diş eti inflamasyonunun değerlendirilmesinde ve ölçümünde hastanın ağzını bir bütün olarak göz önünde bulundurmaktan ziyade bölge bazında değerlendirme yapıldığını ortaya koydu. Popülasyonun %95'inin hafif lokalize inflamasyondan etkilendiği bildirildi. Bu tablo, gingivitisin bir hastalık olmaktan ziyade klinik sağlık kapsamında normallığın bir varyasyonu olabileceği yanlılığına düşürmemelidir. Gingivitis için yapılacak bir olgu tanımının evrensel olarak kabul görebilmesi için, longitudinal gözlemlerle elde edilmiş kanıta dayalı bilgilerle desteklenmesi gerekir⁴⁵.

Gingivitis, klinik bir tanıdır. Gelişen teknolojiler gingivitisin mikrobiyolojik, moleküler ve patofizyolojik niteliklerine ışık tutmasına rağmen, güncel klinik parametrelerin yerini tutabilecek bilgi seviyesine henüz ulaşamamıştır⁴⁵. İnflamasyonun klinik bulguları, eritem, ödem, ağrı, ısı artışı ve fonksiyon kaybıdır⁵³. Radyografiler gingivitis tanısında kullanılamaz.

Gingivitisini işaret eden klinik bulgular şu şekilde sıralanabilir:

- Şişme, diş eti kenarının bıçak sırtı özelliğinin kaybolması ve papillaların küntleşmesi
- Hassas sondalamada dahi kanama ve rahatsızlık görülmesi
- Kızarıklık

Hasta tarafından bildirilebilecek semptomlar şunlar olabilir:

- Kanamalı diş eti
- Metalik/değişmiş tat duyusu
- Ağrı (acı)
- Ağız kokusu
- Yeme zorluğu
- Şişmiş ve kızarık diş eti
- Ağız sağlığı ile ilişkili yaşam kalitesinde düşüş görülmesi

Diş eti iltihabının şiddetinin tanımlanması hasta-hekim iletişimde anlaşılabilirlik açısından faydalı olacaktır. Fakat gingivitis şiddetini teşhis edebilecek objektif bir tanı kriteri bulunmamaktadır. Yine de, gingivitis yaygınlığını *hafif*, *orta* ve *şiddetli* olarak ifade etmek mümkündür^{54,55}. Fakat hafif, orta ve şiddetli diş eti iltihabını kesin hatlarla ayırt edebilecek yeterli kanıt henüz ulaşamadığından, gingivitisin tanımlanmasında yaygınlık ve derece kriterleri kullanılabilir⁷(Tablo 2-4).

Tablo 2-4: Gingivitis Olgusunun Tanımlanma Yöntemleri⁷**Yaygınlık**

- Hafif = <%10
- Orta = %10-30
- Şiddetli = >%30

Derece (SK olan yüzeylerin toplam yüzdesinin beş paydada kademelendirilmesi)

- 1. Derece = <%20
- 2. Derece = %20-40
- 3. Derece = %40-60
- 4. Derece = %60-80
- 5. Derece = >%100

Bozulmamış periodonsiyumlu hastalar ile periodontitis geçmişi olmayan azalmış periodonsiyumlu hastalarda dişlerin toplam yüzeylerinin %10'u ve fazlasında SK görülmesi durumunda olgu gingivitis olarak adlandırılır. Bu durumlarda ağızda SCD 3 mm'nin üzerinde olan yüzey bulunmaz. SK değeri %10-%30 aralığında olması olguyu *lokalize gingivitis*, yüzeylerin %30'dan fazla olması ise *generalize gingivitis* yapar.

Periodontitis geçmişi olan bir hastada diş eti inflamasyonu görülmesi durumunda olgu periodontitis olarak sınıflandırılır. Bu bölgelerde ataşman kaybı ve hastalığın nüks riski görülmeye devam eder⁷.

Başarıyla tedavi edilmiş stabil periodontitis hastasında klinik sağlık için tüm ceplerde sondalama derinliğinin ≤ 4 mm olması ve hiçbir yüzeyde sondalamada kanama görülmemesi gerekir. Gingivitis, 3 mm ve daha sık ceplerde kanama görülmesi olarak tanımlanır. Sondalanabilir cep derinliği ≥ 4 mm ceplerde kanama görülmesi durumunda artık *kapalı cep* kavramından söz edilemez^{56,57}.

2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Çalıştayı'nda⁴¹, klinik sağlık değerlendirilirken dikkate alınan eşik değer üzerine çeşitli görüşler beyan edilmiştir. Bu görüşlerin az bir bölümüne göre, başarıyla tedavi edilmiş bir periodontitis hastasının tedavi sonrası tüm diş yüzeylerinde SCD ≤ 3 mm olmalı ve hiçbir yüzeyde SK görülmemelidir. Fakat tedavi sonrası SCD ≤ 3 mm hale getirilmesi nadiren başarıldığından ve kanama olmasa bile 3 mm'den derin bir yüzey "sağlıklı" olarak sınıflandırılmayacağından, çoğunluğun görüşü 3 mm eşik değerinin aşırı tedaviye yol açacağı yönünde olmuştur. Bu durum, destekleyici tedavi yerine invaziv tedavilerin uygulanmasına açıktır. Tüm bu görüşlerin ışığında eşik değer ≤ 4 mm olarak belirlenmiş olup, tedavi sonrası klinik fenotipin tedavi öncesi fenotipten farklı olarak ele alınması

gerektiği hatırlatılmaktadır. Bu kriterler **0.2-0.25 N** kuvvet uygulanarak sondalama yapıldığı varsayılarak belirtilmiştir.

Klinik pratiğinde, periodontitis hastaları başarıyla tedavi edildiğinde, SCD ≤ 4 mm olan klinik inflamasyon (SK) görülmeyen bir periodonsiyum elde etmek mümkündür⁵⁷. Fakat bu hastalarda, diş eti inflamasyonu kendini gösterdiğinde, SCD ≤ 3 mm olan yüzeylerin gingival inflamasyon alanları olduğu bilinmelidir. Bu hastalar, periodontitis nüksü için yüksek risk grubundadırlar ve yakinen takip edilmelidirler.

Tablo 2-5: Sağlıklı Diş Eti ve Dental Plak Kaynaklı Gingivitisin Diagnostik Kriterleri⁷

	Bozulmamış Periodonsiyum		Periodontitis Geçmişi Olmayan Azalmış Periodonsiyumlu Hasta		Başarıyla Tedavi Edilmiş Stabil Periodontitis Hastası	
	Sağlık	Gingivitis	Sağlık	Gingivitis	Sağlık	Gingivitis
*Sondalamada ataşman kaybı	Yok	Yok	Var	Var	Var	Var
*Sondalanabilir cep derinliği (yalancı cep olmadığı kabul edilerek)	≤ 3 mm	≤ 3 mm	≤ 3 mm	≤ 3 mm	≤ 4 mm (hiçbir yüzey ≥ 4 mm olmayacak ve SK görülmeyecek)	≤ 3 mm
*Sondalamada kanama	<10%	Var ($\geq 10\%$)	<10%	$\geq 10\%$	<10%	$\geq 10\%$
*Radyolojik kemik kaybı	Yok	Yok	Mümkün	Mümkün	Var	Var

2.1.4.3. Gingivitis İçin Risk Faktörleri

Dental plak birikiminin diş eti inflamasyonunu tetikleyebilmesi için aşılması gereken eşik kişiden kişiye değişmektedir. Aynı şekilde ağzın tamamında veya spesifik bölgelerde hastalığın ilerleme hızı da bazı faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Bu faktörler, predispozan faktörler olarak bilinen lokal faktörler ve modifiye edici faktörler olarak bilinen sistemik faktörlerdir⁷.

1. Lokal risk faktörleri (predispozan faktörler)

Gingivitis için lokal risk faktörleri, belli bir yüzeyde günlük ağız bakımı rutinini engelleyerek ve/veya biyolojik bir niş oluşturarak plak birikimi için uygun bir ortam sağlayıp plak birikimini kolaylaştıran faktörlerdir⁴⁵. Bunlar:

- a. **MDP retansiyon faktörleri:** Dişin anatomik faktörleri ve subgingival restorasyonlar^{58,59}, diş eti kenarının apikalinde plak birikimini kolaylaştırır. Biyofilm olgunlaştıkça plağın mekanik olarak ortadan kaldırılması zorlaşır.
- b. **Ağız kuruluğu:** Çoğunlukla kserestomi ile ilişkili olan klinik bir durumdur. Tükürük akışının olmaması veya tükürük kalitesindeki değişiklikler ile seyreden ağız kuruluğu, diş yüzeylerinin temizliğinde ve dolayısıyla dental plak biyofilminin ortadan kaldırılmasında azalmaya yol açar. Bu durum, diş eti inflamasyonunu arttıran bir tablo oluşturur. İlaç kullanımı da dahil yaygın sebepler anti-parasempatik aktiviteye bağlıdır. Örneğin; Sjögren Sendromu'nda fibrozise bağlı olarak gelişen otoimmün yıkım nedeniyle tükürük salgı birimleri yer değiştirdiğinden ağız kuruluğu görülür. Ağız solunumu ve dudak yetersizliği de ağız kuruluğu sebeplerindendir⁶⁰.

2. Sistemik risk faktörleri (modifiye edici faktörler)

Sistemik risk faktörleri immün-inflamatuvar yanıtı olumsuz etkileyen ve MDP yükünü arttırarak “hiperinflamasyon” tablosuna sebep olan faktörlerdir. Bunlar:

- a. **Sigara:** Periodontitis için en önemli davranışsal risk faktörlerinden biri olan sigaranın, genel sağlık üzerinde olduğu gibi diş eti dokuları üzerinde de önemli etkileri mevcuttur. Sigara bileşenlerinin sistemik dolaşımla ve lokal olarak alınmasının mikrovasküler vazokonstrüksiyonu ve fibrozisi tetiklediği bildirilmiştir. Bu durum, yoğun patolojik inflamatuvar hücre infiltrasyonuna rağmen sondalamada kanama gibi gingivitisin klinik belirtilerini maskeleyebilir⁶¹. Gingivitisli bireylerde sigaranın, gingivitis oluşum sürecinde diş etindeki kanama yanıtını baskıladığını ortaya koyan

çalışmalarolmasına karşın^{17,18,19,20}, denge halinde sondalamada kanama ihtimalini arttırdığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır^{21,22}. Nikotine maruz kalan oral veya periferik nütrofillerin birçok fonksiyonunun bozulduğu yönünde bilgiler mevcuttur²⁴. Nikotinin diş etinin kan akımına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, lazer Doppler akımölçer kullanılarak sigara içildiği sırada ölçülen diş eti kan akımında herhangi bir değişiklik bulunamadığı sonucuna ulaşarak bu sonuç sigaranın akut ve kronik etkilerinin farklı olabileceğine bağlanmaktadır²³.

- b. **Metabolik faktörler:** Hiperglisemi yani kanda aşırı glikoz birikimi, direkt olarak mitokondriyal stresi tetikleyerek oksidatif patlamayı artırır. Bu durum, çeşitli proinflatuvar reaksiyonları aktive edebilen toksik bir durumdur. İleri glikasyon son ürünlerinin (Advanced Glycation End-products-AGEs) oluşumu ve yüzey reseptörüne (Receptor for Advanced Glycation End-products-RAGEs) bağlanması, proinflatuvar sinyalizasyonu aktive ederek proinflatuvar olayları tetikler⁶².
- c. **Beslenme faktörleri:** C Vitamini eksikliği veya skorbüt, antioksidan mekanizmalarının hasar görmesine ve oksidatif stresi artmasına sebep olur. Kolajen sentezi olumsuz etkilenir ve kapiller duvarları dayanıksızlaşır. Tüm bunların neticesinde diş eti kanamasına meyillilik artar⁶³.
- d. **Farmakolojik ajanlar:** Kullanılan reçeteli veya reçetesiz ajanlar gingivitise yatkınlığı artırabilir. Bu ilaçlar arasında, tükürük akışını azaltanlar, endokrin sistemi etkileyenler, diş eti büyümesi ve yalancı cep oluşumuna sebep olanlar sayılabilir.
- e. **Cinsiyet hormonlarının artması:** Ergenlik, hamilelik, menstruasyon dönemlerindeki hormonal değişiklikler ve birinci nesil oral kontraseptif kullanımı diş etinin inflamatuvar yanıtını değiştirebilir. Cinsiyet hormonu seviyelerindeki artış sonucu diş eti dokusunda karmaşık biyotepkimeler gerçekleşir ve nispeten az plak seviyelerinde bile beklenenden fazla bir inflamasyon görülür. Modern oral kontraseptiflerde ilaç dozu azaltılmış olup bu tip ilaçların diş

etinde artmış inflamatuvar yanıtı sebep olduğuna dair kanıt kısıtlıdır⁵⁶.

- f. **Hematolojik durumlar:** Myelodisplazi gibi premalign durumlar ve lösemi gibi kan maligniteleri, aşırı MDP birikimi olmaksızın diş etinde görülen aşırı inflamasyon ile karakterizedir. Şişmiş, mor veya nadiren soluk diş eti ile kendini gösterir. Trombositopeni ve/veya pıhtılaşma faktörlerinin eksikliğinden ötürü görülen ve mevcut MDP miktarıyla örtüşmeyen şiddette diş eti kanaması ile karakterizedir⁶⁴.

2.2. Konak Bağışık Yanıtı

Ağız boşluğu, milyonlarca bakterinin konak savunma mekanizmaları ile ahenkli bir dengede olduğu özgün bir mikroçevredir. Bu denge genellikle düzenli bir ağız bakımı ile sağlanır. Dengenin konak aleyhine kayması patolojik olaylarla sonuçlanır. Sağlıklı halden hastalığa veya hastalıktan onarım ve rejenerasyona geçişlerde hücresel ve moleküler elemanların rolü büyüktür⁶⁵. Plak birikimini takiben gelişen diş eti inflamasyonunun hızı ve derecesi, benzer plak miktarlarında bile kişiden kişiye değişmektedir⁶⁶. Konağın, periodontal hastalık patogenezinin katıldığını gösteren çalışmalar dönüm noktası olmuştur⁶⁷.

2.2.1. Hücreler ve Mediatörler

Doğal bağışıklık sistemi, hematopoetik kökenli myeloid hücrelerden (fagositler) hematopoetik kökenli olmayan hücrelerden ve kompleman sistemden oluşur⁶⁸. Akut inflamasyonda ilk yanıt olarak doğal bağışıklık sistemi devreye girer. Doğal bağışıklık sistemi, dokuyu enfeksiyondan arındırmada başarılı olamazsa lezyon kronikleşir ve doğal bağışıklık sistemi mekanizmaları kazanılmış bağışıklık sistemini aktive eder⁶⁹.

Önceleri, doğal bağışıklık sisteminin, mikroorganizmaların ve yabancı maddelerin makrofajlar ve nötrofiller tarafından fagositozla parçalandığı spesifik olmayan bir mekanizma olduğu düşünülürdü^{70,71}. Fakat günümüzde, makrofaj ve nötrofil gibi fagositlerin bakterilerin yüzey moleküllerine bağlanarak onları tanımayı sağlayan özelleşmiş yüzey moleküllerine sahip olduğu bilinmektedir⁶⁸. Bu moleküllerin reseptörlerce tanınması, konak hücresi ile bakterinin birbirinden ayırt edilmesini sağlar⁷². Mikroorganizmaların ve yabancı maddelerin tanınması, fagositleri bölgeye çeken kemokinlerin salınmasını beraberinde getirir. Kompleman sistem, monositleri,

nötrofilleri, lenfositleri çeken biyoaktif proteinleri meydana getirir. Kompleman proteinleri aynı zamanda direkt olarak bakterileri öldürebilir⁷³. Periodontal hastalık, hastalığın şiddetine ve safhasına göre polimorfonüveli lökositler (PMNL/nötrofil), makrofajlar, lenfositler ve plazma hücrelerinin dahil olduğu inflamatuvar bir süreçtir⁷⁴.

2.2.1.1. Nötrofiller

Nötrofiller ya da polimorfonüveli lökositler, savunma sisteminin sayıca en çok bulunan lökositleridir ve antimikrobiyal savunmanın ilk basamağıdır. Her gün kemik iliğinde binlerce nötrofil üretilir ve buradan dolaşıma salınır⁷⁵. Yarılanma ömürlerinin saatler değil günler olduğu tahmin edilmektedir⁷⁶. Güncel veriler, nötrofillerin kan dolaşımında 5 güne kadar kalabildiğini ortaya koymaktadır^{77,78}.

Kemik iliğinde nötrofil popülasyonunun mukim olduğu üç havuz mevcuttur. Bunlar; kök hücre havuzu, mitotik havuz ve postmitotik havuzdur. Kök hücre havuzunda, farklılaşmamış pluripotent hematopoetik kök hücreler bulunur. Mitotik havuzda, granülositik progenitor hücreler farklılaşır ve çoğalırlar. Postmitotik havuzda ise tamamen farklılaşmış nötrofiller kemik iliğinden dolaşıma salınmak üzere hazır halde bulunurlar⁷⁹.

Farklılaşmamış pluripotent hematopoetik kök hücreler, granülositleri oluşturacak olan myeloblastlara farklılaşırlar. Bu farklılaşma, hücre dışı uyaranlara (büyüme faktörleri, sitokinler) ve transkripsiyon faktörleri gibi hücre içi düzenleyicilere yanıt olarak gerçekleşir. Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktör (G-CSF), granülositik öncü hücrelerin proliferasyonunu uyararak granülosit oluşumunu düzenlediği gibi nötrofillerin kemik iliğinden dolaşıma salınımını da düzenler. İnterlökin-17 (IL-17), G-CSF artışını sağlayarak granülosit oluşumunda ve nötrofil salınımında rol oynar⁸⁰.

Granülosit oluşumu yani granülopoez, myeloblastların promyelositlere farklılaşmasıyla başlar. Olgunlaşmanın sonraki evresinde görülen myelositler, tıpkı myeloblastlar ve promyelositler gibi çoğalan hücreler olmasına karşın hücre bölünmesi, metamyelosit evresi olan sonraki evreye geçmeden veya geçince sonlanır^{81,82}. Myeloblastlar, promyelositler ve myelositler yuvarlak çekirdekliken, metamyelositler böbrek şeklinde çekirdeğe sahiptir. Metamyelositlerin olgunlaşmasıyla oluşan bant (çomak) hücreleri olgunlaşarak polimorfonükleer granülositleri yani nötrofilleri oluştururlar. Myeloblastların polimorfonükleer granülositlere olgunlaşma süresi

yaklaşık 14 gün olup⁸³, mitoz sonrası faz 6-7 gün sürer^{83,84}. Kemik iliğindeki nötrofil rezervi dolaşımdaki nötrofillerin sayıca 5-6 katıdır ve inflamasyon durumunda dolaşıma salınmaya hazırdır^{85,86}.

IL-17 etkisiyle nötrofillerin inflamasyon bölgesine toplanması bir döngüye dönüşür. Bunu şu şekilde izah etmek mümkün; kronik inflamasyon alanında nötrofiller IL-14 üretirler ve IL-17 üreten CD4+ T lenfositlerini (Th17 hücreleri) alana çekerler⁸⁷. Th17 hücrelerindeki CCR6 ve CCR2 reseptörleri ile ligandları olan CCL20 ve CCL2 kemokinlerinin etkileşimleri sayesinde Th17 hücreleri inflamasyon bölgesinde kalmaya ve IL-17 salgılamaya devam eder. Böylelikle inflamasyon bölgesine daha çok nötrofil toplanır ve bu bir döngü halinde seyreder⁸⁸.

Nötrofiller, çok hızlı bir şekilde inflamasyon alanına ulaşabilirler⁸⁹. Bu süreç, endotelial hücrelerin uyarılarak E-Selektin ve P-Selektin gibi adezyon reseptörlerinin salınımını arttırması ile başlar. Nötrofiller bu selektinleri tanır ve sinyal üzerine endotelial yüzeye çekilerek orada *yuvarlanmaya* başlar. Nötrofiller, kemokinler tarafından aktive olurlar. Bu durum, başka bir adezyon reseptör grubu olan integrinlerin afinite artışını indükler. Integrinlerin ve selektinlerin ligandlarıyla olan bu etkileşim neticesinde yuvarlanan nötrofiller yavaşlar ve tamamen durarak endotel duvarına *yapışırlar*⁹⁰. Devamında ise, endotel duvarını aşarak inflamasyon alanına doğru *göç ederler*. Nötrofiller dokuya ulaştığında, inflamasyon alanını bulmak için kompleman bileşenleri gibi kemoatraktan maddeleri takip ederler⁹¹.

Antimikrobiyal görevini tamamlayan nötrofiller, programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ile yok edilirler. Bölgedeki fagositler, makrofajlar ve dentritik hücreler, lokal olarak nötrofilleri temizler. Apoptotik nötrofillerin fagositozu ile makrofajlar, anti-inflamatuvar bir yanıt başlatmak üzere yeniden programlanırlar. Bu durum, transforming growth factor (TGF)- β ve IL-10 sentezi ile karakterizedir. IL-17 sentezini uyaran IL-23 sitokininin sentezi azalır⁹². IL-17 seviyesindeki düşüş, daha az G-SCF üretimi ve dolayısıyla daha az nötrofil üretimiyle sonuçlanır. Bu döngü, kontrollü bir hal alır ve nötrofil seviyelerinde kararlı bir durum meydana gelir. Bu hal, “nötrofil reosta (neutrostat)” olarak adlandırılır⁸⁸.

Dolaşımdaki yaşlı nötrofiller, ortadan kaldırılmak üzere kemik iliğine toplanırlar⁹³. Apoptoz ile apoptotik hücre artıklarının uygun şekilde ortadan kaldırılması, inflamasyonun çözünmesinde anahtar rol oynar. Nötrofil temizliği,

apoptotik nötrofillerin yüzeylerinden salgıladıkları sinyal moleküllerine bağlıdır. Bu sinyal sayesinde makrofajlar nötrofilleri tanır ve yutarlar. Apoptotik hücrelerin temizlenmesinde başarısız olunması nekrozla sonuçlanır ve ortama proinflatuvar sinyallerin oluşumuna sebep olan ürünler salınır⁹⁴.

2.2.1.2. Nötrofillerin Antimikrobiyal Mekanizmaları

Nötrofiller, zengin antimikrobiyal donanımları sayesinde geniş bir spektrumda bakteri, mantar ve protozoa ile baş etme kapasitesine sahiptirler. Hücre içinde *fagositoz*, hücre dışında ise *degranülasyon* ve *nötrofil ekstrasellüler tuzaklar* (Neutrophil Extracellular Traps-NETs) yardımıyla periodontopatojenleri yok ederler. Oksijene bağımlı olan (oksidatif patlama) ve oksijene bağımlı olmayan (litik ve proteolitik enzimler) mekanizmaları sayesinde periodontal sağlığın sürdürülebilirliğini sağlarlar. Nötrofillerin antimikrobiyal mekanizmalarının işleyişi için sitotoksik proteinlere ve proteazlara ihtiyaç vardır. Bunlar gelişimleri boyunca üretilip sitotoksik granüllerde depolanır⁸⁸.

Fagositoz

Fagositoz ya da sindirme, partiküllerin hücre tarafından fagozom adı verilen vakuollerin içine alındığı reseptör aracılı bir süreçtir. Nötrofiller patojenleri kalıp tanıma reseptörleri (Pattern-Recognition Receptors-PAMPs) ya da opsoninler (antikor molekülleri veya kompleman bileşenleri) aracılığıyla tanır. Opsoninlenmiş yani işaretlenmiş patojenler, nötrofillerdeki antikor reseptörlerine (Fc reseptörleri) veya kompleman reseptörlerine bağlandıklarında etkin bir şekilde fagosite edilirler. Patojeni içine alan genç fagozom, lizozomlarla birleşerek olgunlaşır. Antimikrobiyal moleküller fagozom lümeninde toplanır ve bu yapı *fagolizozom* adını alır. Fagozomun membranında NADPH oksidaz etkisiyle reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi başlar ve fagozomun iç pH'sı 4,5-5 değerlerine düşer. Fagolizozomun içine potasyum iyonları (K^+) pompalanır ve bu sayede serin proteaz salınımı sağlanır. Diğer bir yandan hidrojen peroksit (H_2O_2) hipoklorik asite (HOCl) dönüştürülür. Bu reaksiyon myeloperoksidaz (MPO) tarafından katalizlenir. Ortam patojenler için toksik bir hal alır fakat fagozomlarda tüm patojenler yok edilemez çünkü bazı patojenlerin nötrofillerin içinde hayatta kalabilmek için özelleşmiş yetenekleri vardır⁹⁵.

Degranülasyon

Kemik iliğinde öncü hücreler nötrofilleri oluşturmak üzere olgunlaşırken, antimikrobiyal proteinlerce zengin granüller sentezlerler⁹⁶. Granüllerdeki proteinler hücre dışına veya fagozomlara salınıp antimikrobiyal aktivite gösterir. Granül membranlarındaki proteinler çevresel uyarılara duyarlı olduklarından⁸¹, nötrofilleri inflamasyon alanına yönlendirerek antimikrobiyal mekanizmaların başlatılmasında etkili olurlar. Granüller, nötrofillerin doğal bağışıklık sistemindeki görevlerini yerine getirebilmeleri için son derece önemlidir⁸².

Granül oluşumu promyelosit evresinde başlar ve myeloid hücre gelişiminin değişik evrelerinde devam eder. Granüller taşıdıkları yük moleküllerine göre farklı gruplara ayrılırlar. Bunlar; azurofilik (özgül olmayan, primer, birincil) granüller, spesifik (özgül, sekonder, ikincil) granüller, tersiyer granüller (jelatinaz granülleri) ve salgı vezikülleri olarak sıralanır.

Granül çeşitliliği, granül proteinlerini düzenleyen gen ekspresyonuna bağlıdır. Bu düzenleme, nötrofil gelişiminin belli evrelerinde ortaya çıkan myeloid transkripsiyon faktörleri aracılığıyla gerçekleşir. Her granül çeşidinde farklı protein, peptid ve proteazlara rastlanır⁹⁷.

Azurofilik granüller, myeloperoksidaz varlığıyla tespit edilir ve myeloid hücre gelişimin ilk evresinden olgunlaşma tamamlanana kadar görülebilirler. Olgun bir myelositte ise azurofilik granüllerin yerini laktoferrinden zengin spesifik granüller almaya başlar ve artık birincil granüllere rastlanmaz. Ardından bolca matriks metalloproteinaz (MMP)-9 içeren jelatinaz granülleri gelişir. Sekonder ve tersiyer granüller, ROS oluşumundan sorumlu olan NADPH oksidaz içerirler⁹⁸.

Azurofilik granüller, golgi aygıtının endoplazmik retikuluma yakın içbükey yüzeyinde oluşurken, sonraki granüllerin golgi aygıtının distal, dışbükey yüzeyinde meydana geldiği görülmüştür⁹⁹. Son çalışmalar bilinenin aksine, memelilerde azurofilik granül proteinlerinin, az sayıda mannoz içeren N-glikan yapıda olduğunu ortaya koymuştur. Bu proteinler peroksidaz negatif granüllerde bulunmamaktadır¹⁰⁰. N-glikozillenmenin endoplazmik retikuluma gerçekleşip golgi aygıtında modifiye edilmesi, azurofilik granüllerin sonraki granüllerden farklı olduğunu doğrulamaktadır. Kemik iliğinde myeloid seri hücrelerinin olgunlaşma süreci boyunca eksprese ettikleri

granül proteinlerinin gen profilleri ile periferik dolaşımdan izole edilen kandaki nötrofillerin granüllerinin proteomları yüksek çözünürlüklü santrifüj tekniğiyle¹⁰¹ kıyaslandığında, granüllerin yerleşimi ile granül proteinlerinin üretim zamanı arasındaki korelasyonu desteklemektedir⁹⁸.

Azurofilik granüller, içerdikleri sayıca en fazla protein/peptid çeşidine göre alt gruplara ayrılırlar^{82,102-104}. Myeloperoksidaz (MPO), peroksidaz pozitif granüllerin belirteci proteindir^{105,106}. Diğer önemli azurofilik granül proteinleri arasında beta-glukuronidaz, nötrofil elastaz, serin proteaz, proteinaz 3, katepsin G ve azurosidin sayılabilir¹⁰⁷.

Salgı vezikülleri, nötrofil farklılaşmasının son basamağına kadar meydana gelmeye devam eder. Vezikülün ekzositozu, nötrofilin hücre içi kısımlarının doğru işleyişine bağlıdır¹⁰⁸. Olgun nötrofiller enfeksiyona yanıt olarak dolaşıma salınır. Sonrasında dolaşımı terk ederek inflamasyon bölgesine göç ederler. Granüllerin ve salgı veziküllerinin ekzositozu, nötrofillerin erken aktivasyonundan fagosit edilmiş mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasına kadar pek çok nötrofil fonksiyonunda hayati öneme sahiptir¹⁰⁹.

Degranülasyon, antijenik uyarılmayı takiben gelişen hipoksi sonucu granüllerdeki ve salgı veziküllerindeki antimikrobiyal sitotoksik moleküllerin salınması sürecidir. Nötrofillerden granül veya salgı vezikülü salınması hücre içi Ca^{2+} seviyesine bağlıdır. L-selektin, CD11b/CD18 ve fMLP reseptörlerinin ligasyonu ile kademeli olarak hücre içi Ca^{2+} artışı sonucu degranülasyon gerçekleşir⁹⁶.

Nötrofil Ekstrasellüler Tuzaklar

Nötrofillerin diğer bir savunma mekanizması hücre dışı tuzaklardır (Neutrophil Extracellular Trap-NET). Nötrofillerde yoğunluğunu kaybetmiş kromatin ile mikrobisidal protein ve peptidlerden ağı yapılar oluşturulmasına NETozis adı verilir¹¹⁰. Bu fenomen ilk olarak Takei ve ark.¹¹¹ tarafından ortaya atılmıştır.

NETozis, yoğunluğunu kaybetmiş kromatinin hücre dışı boşluğa salınmasına yol açar. Kromatin, patojenler için ağ şeklinde bir tuzak oluşturur ve bu sebeple hücre dışı tuzak ismini alır⁹⁵. NETler ilk olarak kırılğan lif oluşumu ile gözlenir ve liflerin arasında yumak halinde görülen küresel yapılar bulunur. NETlerin yapısal iskeletini nükleer DNA (kromatin) oluşturur^{110,112}. Bu iskelet, protein bileşenlerle güçlendirilip

mikrobisidal özellik kazanmaktadır¹¹³. NETlerin görevi, tercihen enfeksiyon bölgesinde antimikrobiyal ajanlardan zengin özel bir alan oluşturmak ve bu sayede mikroorganizmaları hapsederek etkisiz hale getirmektir¹¹⁴.

NET oluşum süreci, programlı hücre ölümünün özel bir şekli olarak ifade edilebilir fakat her NET oluşumu nötrofillerin feda edilmesi ile sonuçlanmaz. *Canlı NETozis* olarak adlandırılan NETozis şeklinde, NET salınımindan sonra da hücreler yuvarlanma ve fagositoz gibi fonksiyonlarına devam edebilir. *Hücre ölümü ile sonuçlanan NETozis* uyarıyı takiben 2-4 saat içinde gerçekleşirken, *canlı NETozis* yaklaşık 5-60 dakika içinde hızlıca gerçekleşir¹¹⁵. Programlı hücre ölümünden farklı olarak kaspaz aktivasyonu gerektirmez. NETler, histon, sitoplazmik proteinler ve antimikrobiyal proteinler içerirler¹¹⁶.

Çeşitli patojenler, antikorlar, immün kompleksler, MPO ve NE salınımı^{95,117,118}, sitokinlerin mikrokristalleri ve diğer fizyolojik uyaranlar NETozise neden olabilir¹¹⁹. NETozisin uyarılması temelde reaktif oksijen türlerine bağlıdır ve bunun esas kaynağı NADPH oksidazdır. NADPH oksidaz aktivasyonu, sitoplazmada artan Ca^{2+} derişimine ve bazı durumlarda mitokondrideki ROS oluşumuna bağlıdır¹²⁰. Reaktif oksijen türlerinin NET oluşumundaki moleküler mekanizması henüz tam olarak anlaşılamasa da, ROS'un birincil granüllerden nötrofil elastaz translokasyonunu uyardığı ve nötrofil elastazın da histonları indirgeyerek kromatin yoğunluğunun azalmasına sebep olduğu bilinmektedir. Bunu takiben MPO etkili olur ve kromatin daha çok gevşer¹²¹. NET salınımı ve hücre ölümü, ROS oluşumundan bağımsız olarak da gerçekleşebilir^{122,123}.

NET oluşumu konak savunmasının önemli bir parçası olmasına karşın, oluşumu ve ortadan kaldırılması arasındaki hassas denge bozulduğunda istenmeyen sonuçlarla karşılaşmaktadır¹¹⁴. Pek çok enfeksiyöz, inflamatuvar ve otoimmün hastalığın patogeneğinde, NET oluşumunun gerektiğinden fazla olması işaret edilmektedir^{120,124}.

2.2.1.3. Nötrofil Enzimleri

Myeloperoksidaz

Myeloperoksidaz, nötrofillerin azurofilik granüllerinde ve monositlerin lizozomlarında üretilen, kuru nötrofil ağırlığının %5'ini oluşturabilen¹²⁵ bir hemeproteindir¹²⁶. Hemeproteinler, aminoasit dışı bir parça olan heme prostetik grup taşıyan heteroproteinlerdir. Heme prostetik grup, proteinlere oksijen taşıyabilme,

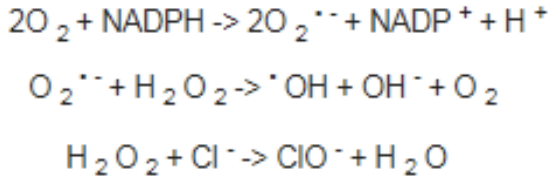
oksijen redüksiyonu ve elektron transferi gibi fonksiyonları kazandırır¹²⁷. MPO enzimini kodlayan gen, 17. kromozomun uzun kolunda (17q22-23) konumlanır. MPO üretimi çeşitli genetik mutasyonlar ve delesyonlarla belirlenir. İki ağır zincir, iki hafif zincir ve iki demir atomundan oluşur. Üretildikten sonra glikozillenen ve proteolitik süreci tamamlanan olgun MPO enzimleri, azurofilik granüllerde depolanırlar.

MPO sentezi, granülopoez esnasında azurofilik granüllerin oluştuğu promyelotik evrede gerçekleşir. Diğer lizozomal enzimler gibi büyük bir prekürsör olarak sentezlenir ve işlendikten sonra lizozomlara taşınır¹²⁸.

Aktif lökositlerden salınan MPO, ko-substratı olan hidrojen peroksitin oksidatif potansiyelinden faydalanarak, peroksidasyon ve halojenizasyon döngülerinde reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesinden sorumludur. Bu sayede bakterisidal görevini yerine getirir¹²⁹. Oksijene bağlı mikrobisidal aktivitenin optimum düzeyde gerçekleşebilmesi MPO enzimine bağlıdır. MPO, HOCl ve diğer toksik oksijen ürünlerinin oluşumunda kritik rol oynar¹²⁸.

Nötrofillerin aktive olması konak bağışık yanıtının kilit noktasıdır. Bu aktivasyon, NADPH oksidaz enzim kompleksinin devreye girmesi ve oksidatif patlama ile sonuçlanır. Bu olaylar zincirinden (Şekil 2-1) MPO sorumludur¹³⁰.

Oksidatif patlama veya solunum patlaması, fagolizozomdan salınan NADPH'nin elektronlarını oksijene (O_2) aktarması sonucu süperoksit radikalleri ($O_2^{\cdot-}$) oluşumudur¹³¹. Süperoksit daha sonra kendiliğinden veya süperoksit dismutaz enziminin katalizörlüğünde hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşür¹³². Hidrojen peroksit yüksek dozda bakterisidal veya sitotoksik etki gösterebilir fakat düşük dozlarda etkileri sınırlıdır¹³³. Hidrojen peroksitten ise MPO katalizörlüğünde güçlü bir oksidan olan HOCl üretilir¹³⁴⁻¹³⁶. Bu oksidanların nötrofillerin antibakterisidal etkisinden büyük oranda sorumlu olduğuna inanılır. MPO tarafından yönetilen bu reaksiyonun aşırı miktarda gerçekleşmesi konağın inflamasyon alanında hücreleri ve biyolojik materyalleri (ekstrasellüler matriks, biyolojik sıvılar vb.) etkileyen doku hasarı ile sonuçlanır^{135,137}.



Şekil 2-1. Oksidatif Patlama¹³⁰

Beta-Glukuronidaz

Beta-glukuronidaz, nötrofillerde üretilen bir lizozomal asit hidrolazdır¹³⁸. Nötrofillerin birincil (azurofilik) granüllerinde depolanır ve bağ dokusunda proteoglikanların degradasyonunda aktif rol alır¹³⁹. Hücrelerden hücre dışına salınan diğer lizozomal bileşikler (elastaz, kolajenaz vb.) gibi konakta doku yıkımına sebep olur. Bu proteazların inhibisyonun uygun şekilde kontrol edilmesi, hücre dışı lizozomal aktivitenin patolojik sonuçlarını önlemek açısından kritiktir¹⁴⁰.

Mevcut çalışmalarda BGD, PMNL'lerden birincil granüllerin salınımını tespit etmek için belirteç olarak kullanılmıştır. Diş eti oluşuna PMNL akışı için iyi bir belirteçtir¹⁴¹⁻¹⁴³. Periodontal hastalığın tüm evrelerinde gözlenir³.

Nötrofil Elastaz

Nötrofil elastaz, katalitik kısmında serin amino asidine ait kalıntılar içeren bir serin proteazdır¹⁴⁴. Fagositoz ve hücre lizisinde nötrofillerdeki azurofilik granüllerden salınır. Substrat yelpazesi oldukça geniştir. Elastin, kolajen, fibronektin, hemoglobin, laminin 1, proteoglikanlar ve trombospondin aleyhinde faaliyet gösterir¹⁴⁵. Nötr veya hafif alkali pH'da (7,5-8,5) etkili olur.

Granüllerde muhafaza edilen NE, salındıktan sonra hücre membranının dış yüzeyine bağlanır. Lipopolisakkarit (LPS), tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve interleukin-8 (IL-8) ile uyarılma sonucu 20 misli fazla NE ile NE-ilişkili proteaz (katepsin G ve proteinaz 3) nötrofil membranına bağlanır¹⁴⁴. Bu enzimler, iyonik etkileşimlerle proteolitik aktivitelerini sürdürür.

NE, nötrofil transmigrasyonuna olanak sağlar. Salgılanan NE, aşırı ekstrasellüler matriks degradasyonuna yol açma potansiyeline sahiptir^{146,147}. Dolaşımdaki ve dokulardaki pek çok proteinin degradasyonuna yol açabilme potansiyeli nedeniyle serin

proteazlar, doku yıkımına sebep olduklarından aktiviteleri kontrol altında olmalıdır. Bunu sağlayan da enzim inhibitörleridir.

Normal şartlar altında proteolitik enzimler ve enzim inhibitörleri arasında bir denge söz konusudur. Fakat inflamasyon şiddetlendiğinde, dokularda nötrofil gibi proteinaz üretebilen hücrelerin infiltrasyonu artar. Fibroblast ve epitel hücreleri gibi dokulardaki yerleşik hücreler de proteinaz salgılayabilirler. Bu durumda, eğer inflamasyon bölgesinde aktif enzimlerden daha az enzim inhibitörü bulunursa doku degradasyonu şiddetlenir¹⁴⁸. Buradan hareketle, proteolitik enzimlerden doku harabiyetinin bir göstergesi olarak yararlanılabilir¹⁴⁹. Çalışmalar, çeşitli inflamatuvar hastalıklarda hastalardan alınan sıvı örneklerindeki serin proteaz seviyelerinin arttığını göstermiştir^{150,151}.

ROS üretimi azurofilik granüllerden NE salınımına yol açtığında¹⁵², bir dizi degradasyon olayı gerçekleşir ve zamanla gelişen rüptür sonucu NET salınımı olur¹¹⁰. NE aktivitesi NET oluşumu için gereklidir. Ne kadar çok NET oluşumu gerçekleşirse nötrofil toksitesi o derece artacağından inflamasyonda rol alan bu enzimlerin dengede tutulması sağlık açısından çok önemlidir¹⁵³.

2.2.2. Nötrofillerin ve Enzimlerinin Periodontal Hastalıktaki Rolü

Sayısız mikroorganizma, insan vücudunda bir uyum içinde varlığını sürdürerek mikrobiyotamızı oluşturur. Konak ve simbiyotik mikrobiyota arasındaki bu denge yani homeostazis, sağlığın devamlılığında anahtar görevindedir^{154,155}. Mikrobiyotamıza ait olmayan mikroorganizmalarla karşılaştığımızda ve disbiyoz durumunda devreye doğal bağışıklık sistemi girer.

Nötrofiller diş eti oluştundaki baskın hücrelerdir¹⁵⁶. Doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemlerinin eşgüdömlü bir şekilde işlemlerini sağlarlar. Hücre dışı patojenleri öldürme görevi görürler ve fonksiyonlarının sağlıklı olması periodonsiyum dokularının korunması için kritiktir¹⁵⁷. İltihabi çözönmeye ve doku iyileşmesine katkıda bulunurlar. Periodontal hastalıkların patogeneğinde, patojence zengin MDP ile bağlantı epitelini arasında bir bariyer görevi görürler. Bağlantı epitelinden devamlı olarak salgılanan inflamatuvar mediatörlere yanıt olarak bağlantı epitelinden sulkusa doğru göç ederek bakteriyel biyofilme karşı birincil savunma hattını oluştururlar⁷⁴. Biyofilmi gözetim altında tutarak periodontal dokuların sağlığının sürekliliğinden

sorumludurlar¹⁵⁸. Nötrofiller, 20 lm/dk ile dokulararası geçiş hızı en yüksek memeli hücresidir. Kemotaktik bir uyarı sonucu göç ederek hücrelerin enfeksiyon bölgesini bulmasını kolaylaştırır¹⁵⁹.

Gingivitiste inflamatuvar bir cevap meydana gelir. Eğer inflamasyon kontrol altına alınmaz ve etken görülmeye devam ederse, gingivitis periodontitise yol açabilir. Bu durumda, mikroorganizmalar nötrofiller tarafından elimine edilemez veya kontrol altına alınamazlar. Daha fazla nötrofil periodontal dokularda toplanmaya başlar ve nötrofil birikimi kemik kaybına kadar gidebilen periodontal doku hasarıyla sonuçlanır¹⁵⁸. Nötrofiller ile mikroorganizmalar arasındaki bu yakın dengenin periodontal sağlık açısından hayati önem taşıdığı açıktır. Fakat bu mekanizma belli sonuçları da beraberinde getirir. Nötrofil savunması aşırı aktivite gösterdiğinde doku yıkımına ve periodontal hastalığın şiddetlenmesine sebep olur¹⁶⁰.

Nötrofil savunmasının önemli bir ayağı proteolitik enzimlerdir. Bu enzimlerin periodontal hastalık ile ilişkisi çeşitli şekillerde ele alınmıştır. Periodontal hastalığı teşhis edebilme potansiyeli açısından çeşitli enzimlerin test edildiği bir çalışmada, en iyi neticeleri nötrofil elastaz ve beta-glukuronidaz enzimlerinin verdiği görülmüştür¹⁶¹. DOS'ta beş parametrenin incelendiği bir çalışmada ise, MPO'nun ileri periodontal hastalık için potansiyel bir gösterge olabileceği öne sürülmüştür¹⁶².

BGD, DOS'ta ilk olarak 1970 yılında Bang ve ark.¹⁶³ tarafından yapılan çalışmada saptanmıştır. Bu çalışmada, DOS'taki BGD miktarı ile oluktaki PMNL sayısı arasında korelasyon tespit edilmiştir. Bu sayede BGD aktivitesi ile periodontal hastalık arasında pozitif ilişki olduğu kabul edilmiştir. Periodontal hastalığın teşhisinde diagnostik kriter olarak BGD ölçümünün alt yapısı birden çok kanıta dayanmaktadır^{156,164}. Harper ve ark.¹⁶⁵, hastalık şiddeti ve subgingival periodontopatojenlerin sayısı arttıkça DOS'ta total BGD aktivitesinde anlamlı artış gözlemlenmiştir.

Total BGD aktivitesi ile periodontal hastalıkta klinik parametreler arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok merkezli kesitsel bir çalışmada¹⁶⁶, DOS'ta total BGD aktivitesinin periodontal hastalığın geleneksel klinik parametrelerinden farklı bir indikatör olduğu, BGD'nin periodontal hastalığın teşhisinde yardımcı olabileceği ifade edilmiştir. Yine Lamster ve ark.¹⁶⁷ tarafından yürütülen 6 aylık bir takibi kapsayan longitudinal bir çalışmada, 6 ay sonunda DOS'ta BGD seviyelerinde ve klinik ataşman

kaybında (KAK) artış görülmüştür. Özetle Lamster ve ark. bu çalışmalarında, periodontal hastalık aktivitesi göstermeyen bireylerde DOS'ta BGD aktivitesi görülmezken, periodontal hastalık aktivitesi gösteren bireylerde DOS'ta BGD seviyelerinin arttığını saptamıştır. Bu bulgular BGD'nin, periodontal hastalığın nüks riskinin ve tedaviye alınacak cevabın öngörülmesinde yardım olabileceğine işaret etmektedir¹⁶⁶⁻¹⁷¹.

BGD gibi NE de aktif PMNL'lerden salındığından, bu enzimlerin DOS'taki aktivitesinin ölçümü, PMNL fonksiyonlarının değerlendirilmesine ve periodonsiyumun klinik davranışlarını anlamaya yardımcı olmaktadır¹⁷². Benzer şekilde, periodontal hastalığın ilerleme kaydettiği yüzeylerde ilerleme görülmeyen yüzeylere kıyasla anlamlı ölçüde daha yüksek NE seviyeleri tespit edilmiştir¹⁷³. NE miktarı ve aktivitesi ile inflamasyon ve ataşman kaybı arasında pozitif bir ilişki olduğu ortaya konmuştur^{148,174-176}. Palcanis ve ark.¹⁷⁷ tarafından yürütülen longitudinal çalışmada, NE aktivitesinin gelecekteki ataşman kaybının tahmininde yardımcı olabileceği işaret edilmektedir. Gustafsson ve ark.¹⁴⁸, NE aktivitesi ile SCD'nin korelasyon gösterdiğini ortaya koyarken, Darany ve ark.¹⁷⁵, inflamasyon ile NE aktivitesinin güçlü şekilde ilişkili olduğunu belirtmiştir.

Bir başka nötrofil enzimi olan MPO'nun, periodontal hastalığın tedavisiyle birlikte DOS'ta azaldığı görülmüştür^{178,179}. Sağlıklı ve periodontitisli bireylerde DOS'taki MPO düzeylerinin kıyaslandığı bir çalışmada ise, MPO aktivitesi ile periodontal doku yıkımı arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuştur¹⁸⁰.

Yapılan çalışmalar ışığında, konağın inflamatuvar yanıtında önemli rol oynayan MPO, BGD ve NE enzimlerinin, periodontal hastalık ile ilişkili oldukları ve hastalığın aktivitesinin anlaşılmasında önemli bir belirteç olabilecekleri sonucuna ulaşılabilir.

2.2.3. Diş Eti Oluk Sıvısı

İnsanda diş eti oluk sıvısı, ilk defa Brill ve Björn tarafından 1959 yılında keşfedilmiştir¹⁸¹. DOS fizyolojik bir sıvı olup, bazı araştırmacılar tarafından inflamatuvar bir eksuda olarak kabul edilir¹⁶³. Esas olarak oluk epitelindeki gingival pleksustan beslenir. DOS temelde lokal yıkım ürünlerini içerir. Bunlar: doku yıkım ürünleri, inflamatuvar mediatörler, serum transudası, subgingival MDP, ekstrasellüler proteinler ve hücrelerdir¹⁶¹. Bu kompozisyon periodonsiyumun sağlıklı ve hasta olması durumunda değişiklik gösterir¹⁸².

DOS, periodontal hastalıkların teşhisinde, ilaçların metabolik süreçlerinin araştırılmasında ve proteomik çalışmalarda kullanılmaktadır^{183,184}. DOS hacmi oldukça azdır fakat diş eti oluşunun derinliğine göre değişir. Normal şartlar altında saatte 3 µl salınan DOS, şiddetli periodontal inflamasyonda saatte 44 µl'ye kadar salınabildiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda izole edilen DOS miktarı 0,43-1,56 µL değer aralığında değiştiği rapor edilmiştir^{185,186}. DOS'un pH'sı baziktir (7,5-8,0)¹⁸⁷. İnflamasyon durumunda, diş eti oluşundaki protein yıkımına bağlı olarak ortaya çıkan amonyumdan ötürü pH'nın arttığı rapor edilmiştir¹⁸⁸.

DOS, mekanik faktörlerden, sigara gibi alışkanlıklardan, cinsiyet hormonlarından ve periodontal tedavilerden etkilenir. Hastalık durumunda oksijen seviyeleri, redoks potansiyeli ve osmotik basınçta değişiklik gözlenir¹⁸².

2.3. Sigara

Sigara, dört binden fazla kimyasalı içinde barındıran bir tütün ürünüdür¹⁸⁹. Tütün bitkisinin geçmişi Amerika kıtasında M.Ö. 1400-1600'lere dayanır. Önce Avrupa'ya getirilmiş, oradan da tüm dünyaya tanıtılmıştır¹⁹⁰. Tütün, *Solanaceae* ailesinden *Nicotiana* cinsine ait bitkilerin genel adıdır¹⁹¹. Yetmişden fazla türü bulunmakla beraber en çok bilineni *Nicotiana tabacum*, oldukça bağımlılık yapıcı bir uyarandır¹⁹².

Nikotin, güçlü nörotoksitesinden ötürü insektisid olarak kullanılır. İlk olarak Alman kimyager Karl Ludwig Reinmann ve Alman doktor Wilhelm Heinrich Posselt tarafından 1828'de tütün bitkisinden izole edilmiştir¹⁹³. Nikotin hem sedatif hem de uyarıcıdır. Diğer toksik kimyasallarla birlikte ciddi zararları olan bir ürüne dönüşmektedir.

Sigara nikotinin yanı sıra, kadmiyum, arsenik, kurşun, asetaldehit, formaldehit, hidrojen siyanid, benzen, amonyum, karbon monoksit, 1,3-bütadien, akrolein gibi dört binden fazla toksik kimyasal içerir¹⁹⁴. Psikoaktif maddelerden ve ağır metallerden zengin olan sigara, DSÖ tarafından bulaşıcı olmayan hastalıkların ve önlenabilir ölümlerin başlıca nedeni olarak kabul edilmiştir. Ayrıca gebelikte kullanımının, bebek ölümlerine, düşük doğum ağırlığına, erken doğuma ve fetal bozukluklara sebep olduğu rapor edilmiştir¹⁹⁵.

Sigara, reaktif oksijen türlerinin, reaktif nitrojen türlerinin ve diğer oksidan bileşenlerin sebep olduğu oksidatif stres birikimi nedeniyle tüm dokularda patolojik etkilere sebep olmaktadır. Artan oksidatif stres, inflamatuvar sitokinlerin ve matriks metalloproteinazların artışına, endotelial fonksiyon bozukluklarına, plak formasyonuna, koagülasyon mekanizmasının uyarılmasına ve patolojik trombus oluşumuna sebep olur. Sigara ile ilişkili protrombotik değişikliklerin çoğu sigaranın bırakılmasıyla eski haline dönebilir¹⁸⁹.

Sigaranın, pulmoner, kardiyovasküler, gastrointestinal hastalıklar ve kanserlere olan etkilerinin¹⁸⁸⁻¹⁹¹ yanı sıra periodontal hastalıklar ile de oldukça yakın bir ilişkisi vardır. Sigara, Bergström ve ark.¹⁹² tarafından periodontal hastalık için bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Grossi ve ark.¹⁹³ tarafından sigaraya maruz kalma ve periodontal hastalık arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuştur. Ağız kanserleri ile periodontal hastalıklar pek çok kez sigara ile ilişkilendirilmiştir^{195,196}.

2.3.1. Nikotin ve Genel Etkileri

Sigara dumanının en etkili bileşenlerini nikotindir. Nikotin, tütün yapraklarında insektisid olarak işlev gören doğal bir bileşendir. Sigaranın ağırlıkça yaklaşık %1,5'ini oluşturur. İçilen her sigarada yaklaşık 1,0-1,5 mg nikotin sistemik olarak emilir¹⁹⁷. Pipo tütünü sigara ile benzer derişimde nikotin içerirken, çiğneme tütünü ve sarma tütünde sigaradakinin yarısı derişimde nikotin bulunur¹⁹⁸.

Zayıf bir baz olan nikotinin, biyolojik membranlardan geçişi pH'ya bağlıdır. Asidik ortamlarda hızlı geçiş sağlayamaz. Yanak içinde emilen tütünden emilim, ortamın asiditesi nedeniyle daha yavaştır¹⁹⁹. Dumanın absorbe edildiği tütün ürünlerinde pH daha alkalidir ($pH \geq 6,5$) ve nikotin iyonize değildir. Bu ürünlerin dumanı ağızdan emildikten sonra²⁰⁰ hızlıca akciğerlerden absorbe edilir²⁰¹.

Kanda artan nikotin konsantrasyonu, sigara içme tamamlanınca zirveye ulaşır. Nikotin yüksek seviyelere ulaştığında 10-20 saniye içinde beyne ulaşır²⁰². Nikotin emilimi, solunan duman miktarına, soluma süresine, dumanın pH'sına bağlı olarak değişir. İn vivo fonksiyonları doza, toleransa ve otonomik tonusa bağlıdır.

Nikotin 3 mekanizma ile organlar ve sistemler üzerinde fizyolojik ve patolojik etkide bulunur^{203,204}:

- Gangliyonik geçiş ve otonomik gangliyonlarda çift yönlü etki
- Merkezi Sinir Sistemi'nin uyarılması
- Kromafin hücrelerinde nikotinik asetilkolin reseptörlerini uyarılması ve katekolamin salgılanması

Nikotin, lokal etkilerinin dışında merkezi ve periferik sinir sistemlerini hedef alır. Oksidatif stresin artmasından, DNA hasarından, ROS ve lipid peroksidaz artışından sorumludur. Ağır zehirlenme durumunda tremor, siyanoz, bilinç kaybı, kollaps ve koma görülür. Solunum kaslarında paraliz gelişirse ölüm bile görülebilir. Yetişkinlerde lmcl doz (LD50) 30-60 mg iken çocuklarda 10 mg civarındadır²⁰⁵.

Nikotinin hücre düzeyinde biyolojik etkileri mevcuttur. Hücre bölünmesini arttıran araşidonik asit metabolitlerinin oluşumundan sorumludur²⁰⁶⁻²⁰⁸. Reseptör aracılı olayların gelişmesinden sorumlu sinyalizasyon yollarını aktive ederek karsinojenik etkiler doęurur²⁰⁴. Çeşitli alıřmalar²⁰⁹⁻²¹⁶, nikotinin, faklı organ ve sistemlerde kanser ve tümör oluşumunu tetiklediğini işaret etmektedir.

2.3.2. Nikotin ve Konak Bağışık Yanıtı

Sigara ve tütün ürünlerinin doğal ve kazanılmış bağışıklık sisteminde çeşitli hasarlara yol açtığı bilinmektedir²¹⁷⁻²²¹. Oral ve periferik nötrofiller nikotine maruz kaldığında, fagositoz²²², süperoksit ve hidrojen peroksit retimi^{223,224}, integrin ekspresyonu²²⁵, proteaz inhibitör retimi²⁴ gibi fonksiyonlar olumsuz etkilenmektedir. DOS'ta²²⁶⁻²²⁸ ve periferik kandaki²²⁹ sitokin seviyelerindeki değişiklikler meydana gelmektedir.

Nowak ve ark.²³⁰, invitro ortamda, nikotinin düşük konsantrasyonlarda nötrofillerin kemoattraktanlara olan gn arttığını, daha yüksek konsantrasyonlarda ise kemotaktik cevabı ve spontan g baskıladığını rapor etmiştir.

Kültür ortamında nikotinle muamele edilen gingival keratinositlerde²³¹ ve fibroblastlarda²³² daha az proinflamatuvar sitokin üretimi gerçekleşmiştir. LPS nikotin ile birlikte inflamatuvar mediatörlerin üretiminde artışa sebep olmaktadır^{232,233}.

2.3.3. Sigaranın Periodontal Dokulara Etkisi

Sigara içenlerin ağız dokuları yüksek düzeyde nikotine maruz kalmaktadır. Bu durum bölgedeki hücre popülasyonunu olumsuz etkilemektedir. Sigara içenlerde DOS'ta nikotin konsantrasyonu yaklaşık 300 kat artmaktadır^{197,225}.

Nikotin vazokonstriktif özellikleri nedeniyle diş etinde kan akışını bozabileceği hipoteziyle yürütülen çalışmalarda^{23,234,235}, lazer Doppler akım ölçer ile diş etinde kan akışının ya değişmediği ya da arttığı görülmüştür. Bulgular, sigaranın akut ve kronik etkileri farklı olabileceği ve sigaradan ötürü kan basıncındaki artışın sigaranın vazokonstriktif tesirini etkisiz bıraktığı için görülmüş olabileceği şeklinde yorumlanmıştır²³⁵.

Sigara, yumuşak dokularda revaskülarizasyonu^{236,237} ve sert dokularda yara iyileşmesini^{238,239} bozmaktadır. In vitro çalışmalarda, nikotin kök yüzeyine bağlanarak²³⁹, fibroblast bağlantısında^{240,241} ve integrin ekspresyonunda²⁴² değişiklikler, kolajen üretiminde azalma ve kolajenaz üretiminde artış²⁴³ meydana getirmektedir. Sigara içenlerden çekilmiş dişlerde içmeyenlere kıyasla daha az PDL-fibroblast bağlantısı görülmüştür²⁴⁴. Hayvan deneylerinde de, nikotin lokal olarak verildiğinde kemik iyileşmesini olumsuz etkilemiştir²³⁸. Bu durum, gecikmiş revaskülarizasyon²³⁷ ve büyüme hormonlarının salınımında azalmayla²⁴⁵ birlikte seyretmektedir.

İnflamasyon durumunda diş eti oluşuna nötrofillerden proteolitik enzimlerin salındığı bilinmektedir. Klinik olarak sağlıklı veya inflamasyonun hafif belirtilerini gösteren diş etine sahip genç erişkinlerde sigaranın nötrofil aktivitesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada²⁴, DOS'ta nötrofil elastaz, laktoferrin, α -1-antitripsin ve α -2-makroglobulin seviyeleri üzerinde sigaranın etkilerinin kısıtlı olduğu ortaya konmuştur. Aynı çalışmada sigara içenlerde içmeyenlerden anlamlı derecede daha az DOS hacmi görüldüğü rapor edilmiştir.

Yapılan klinik ve epidemiyolojik çalışmaların bir kısmı, sigara içenlerde içmeyenlere göre diş eti iltihabının ve diş eti kanamasının daha az belirgin olduğunu^{20,246-248} ve DOS miktarının daha düşük olduğunu^{249,250} ortaya koymuştur. Aksine, sigaranın, denge halinde sondalamada kanama ihtimalini artırdığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır^{21,22}.

Deneyisel gingivitiste görünür damar (aktif kanama görülmeyen, kanamayan) sayısının araştırıldığı bir çalışmada²⁵¹, sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla daha az sayıda görülmüştür. Hem deneyden önce hem de deney sonlandırıldıktan sonra görünür damar sayısında sigara içenler ve içmeyenler arasında bir fark görülmemiştir. Bulgular, klinik olarak sağlıklı koşullarda diş etinin damarsal yapısı üzerine sigaranın büyük bir etkisi olmadığına işaret etmektedir.

2.3.4. Sigaranın Periodontal Hastalıklara Etkisi

Gelskey²⁵², Hill²⁵³ tarafından ortaya atılan nedensellik kriterlerini sigara için ele aldığında, dokuz kriterin çoğunun periodontal hastalıkta geçerli olduğunu rapor etmiştir (Tablo 2-6). Mevcut kesitsel çalışmalar^{192,196,254-265}, sigara ile periodontitis arasındaki ilişkiyi destekler niteliktedir. Sigara içenlerde şiddetli periodontitis görülme ihtimali içmeyenlere kıyasla 3 kat artmaktadır²⁶⁶. Yapılan çalışmaların genelinde, plak birikiminin sigara içen ve içmeyenlerde benzer olduğu, sigara içenlerde sondalanabilir cep derinliğinin daha yüksek olduğu^{263,265,267}, daha fazla ataşman kaybı^{257,268,269} ve kemik kaybı²⁷⁰⁻²⁷² görüldüğü rapor edilmiştir. Supragingival diş taşına sigara içenlerde daha fazla rastlanmaktadır²⁷³.

ABD bünyesinde yürütülen 12.329 kişilik sigara ve periodontal hastalığın araştırıldığı epidemiyolojik bir çalışmada (National Health and Nutrition Examination Survey-NHANES)²⁶⁰, periodontitisli bireylerin yarısının sigara içen (%41,9) ve sigarayı bırakmış (%10,9) kişilerden oluştuğu görülmüştür. Araştırmacılar, periodontitis olgularının %75'ine sigaranın sebep olduğunu tahmin etmektedir. Yaş, etnik köken, gelir ve eğitim düzeyi gibi etkenler standardize edildiğinde sigara içenlerde periodontitis görülme riski içmeyenlere kıyasla 4 kat artmaktadır²⁶⁰. Mevcut veriler, sigaranın şiddetli periodontal ataşman kaybında etyolojik rol oynadığına da işaret etmektedir^{264,265}. Bahsi geçen çalışmalar ve diğerleri^{193,257,263,274}, periodontal hastalığın yıkım şiddeti ile tüketilen sigara miktarı arasında kuvvetli bir doz-yanıt ilişkisi olduğunu belirtmektedir.

Sigara içenler ile içmeyenler arasında, sondalanabilir cep derinliği ve ataşman kaybı farkı en bariz üst dişlerin lingualinde^{268,272,275} ve alt ön dişlerde görülmektedir²⁶⁸. Bu bulgular, sigaranın lokal etkilerini desteklemektedir. Retrospektif ve prospektif çalışmalar, periodontal hastalık ilerlemesinin^{47,276-279} ve diş kaybının²⁸⁰⁻²⁸⁵ sigara içenlerde içmeyenlere oranla daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo (2-6): Gelskey²⁵² Tarafından Derlenen Hill Kriterleri²⁵³

Nedensellik Kriterleri	Bilimsel Kanıt
İlişkinin gücü	Kesitler çalışmaları ve vaka-kontrol çalışmaları periodontitisle sigara arasında orta-güçlü ilişki olduğunu ortaya koymaktadır.
Kararlılık	Çeşitli toplumlarda yürütülen çeşitli çalışmalar (kesitsel, vaka-kontrol, longitudinal), periodontal ataşman kaybı ile sigara arasında ilişki olduğunu işaret etmektedir.
Özgüllük	Hastalığın ilerleyişi sigaranın bırakılması ile yavaşlamaktadır.
Zamansallık	Sigara içenlerde periodontal tedaviye olan yanıt, içmeyenlerin yanıtı kadar iyi değildir.
Doz-yanıt ilişkisi	Günde 20 adetten fazla sigara içenlerde, 20 adetten az içenlere göre hastalığın şiddeti artmaktadır.
Biyolojik akla yatkınlık	Sigaranın periodontal hastalık ile olan ilişkisi, tütün ürünlerinin konak yanıt ve mikrobiyal faktörler üzerindeki bilinen olumsuz etkileriyle desteklenmektedir.
Tutarlılık	Sigaranın periodontitis üzerindeki etkisi, hastalığın bilinen doğasıyla örtüşmektedir.
Paralellik	Sigaranın periodontal dokular üzerindeki etkileri sigaranın genel sağlık üzerindeki bilinen olumsuz etkileriyle paralellik seyretnmektedir.
Deneysellik	Periodontitis için deneyzellik henüz mümkün değildir.

2.3.5. Sigara ve Periodontal Tedavi

Çalışmalar²⁸⁶⁻²⁹⁵, sigaranın cerrahi ve cerrahi olmayan periodontal tedavileri takiben beklenen sondalanabilir cep derinliğinin sığlaşmasını ve ataşman kazancını riske attığını ortaya koymaktadır. Bu çalışmalar toplu olarak incelendiğinde şu bilgilere ulaşılmaktadır:

- Cerrahi ve cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben, sondalanabilir cep derinliğindeki sığlaşma ve klinik ataşman seviyesindeki kazanımlar, sigara içenlerde içmeyenlerdeki değerlerin %50 ile %75'i kadar olmaktadır.
- Tedavi öncesi sondalanabilir cep derinliğinin ≥ 5 mm olduğu yüzeylerde sigaranın etkisi daha belirgindir.

- Cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben klinik ataşman kazancı sigara içenlerde içmeyenlerden 0,4 mm²⁸⁸ ile 0,6 mm²⁹⁰ daha az görülmektedir.
- Tedavi öncesi sondalanabilir cep derinliği ≥ 7 mm olan bölgelere flap cerrahisi yapıldıktan sonra ise klinik ataşman kazancı sigara içenlerde içmeyenlerden 1 mm'ye kadar daha az olmaktadır²⁹⁴.
- Günlük sigara tüketim adedinin tedaviye alınan yanıtı etkilediği not edilmiştir²⁹³.

2.3.6. Sigarayı Bırakmanın Periodontal Dokulara ve Tedaviye Etkisi

Sigarayı bırakmak, sigaranın geçmişte sebep olduğu etkileri geri döndürmese de, sigarayı bırakanlarda kemik ve ataşman kaybının yavaşladığını gösteren veriler, sigarayı bırakanların hastalığın şiddeti açısından sigara içenlerle hiç içmeyenler arasında yer aldığını işaret etmektedir^{268,275,296}.

Sigarayı bırakanlar ile hiç içmemiş olanların cerrahi ve cerrahi olmayan periodontal tedaviye olan yanıtlarının benzer olduğu görülmüştür^{288,293}. Benzer şekilde implant başarı oranları da sigarayı bırakanlar ile hiç içmeyenlerde yakın seyretmektedir²⁹⁷.

Sigara içenlerdeki implant kayıplarının çoğu yüklemenden önceki dönemde görülmektedir. Bu yüzden bu dönemde sigaranın bırakılması faydalı olabilir. Bain'e göre²⁹⁸, implant yerleştirilmeden önceki 1 hafta ve yerleştirildikten sonraki 8 hafta boyunca sigaranın bırakılması sayesinde, implant kayıpları hiç sigara içmeyenlerle benzer seyretmektedir. Fakat nikotin bağımlılık yapıcı özelliğinden ötürü bu protokolü uygulamak zordur. Bu nedenle, davranış yönetimi ve farmakoterapi gibi sigarayı bıraktırma yöntemlerinin implant başarısındaki etkilerinin klinik çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç vardır.

2.3.7. Sigaranın Yaşam Kalitesine Etkileri

DSÖ tarafından yürütülen Küresel Yetişkin Tütün Araştırması'na²⁹⁹ göre Türkiye'de, nüfusun %31,6'sı tütün ürünü kullanmaktadır. Kullanım oranı erkeklerde (%44,1) kadınlara (%19,2) göre daha yüksektir. Sigaraya başlama yaşı 17 olup günlük sigara tüketimi ortalama 18 adettir. Nüfusun %57'si sigaraya 18 yaş ve altında başlamaktadır.

Ağız sağlığı ile ilişkili yaşam kalitesi [Oral Health Related Quality of Life (OHRQoL)], genel sağlığın ve iyilik halinin bütünüleyici bir parçasıdır³⁰⁰. OHRQoL, diş fonksiyonlarının fiziksel sürdürülebilirliği, diş ağrıları, fizyolojik rahatsızlıklar ve tüm bunların sosyal etkilerinin bireysel düzeyde değerlendirilmesini kapsar³⁰¹.

Ağız boşluğu, *genel sağlığın penceresi* olarak tarif edilir³⁰². Ağız bölgesinde yaşanan fiziksel, fizyolojik ve fonksiyonel değişiklikler, ağız sağlığı ile ilişkili yaşam kalitesini etkilemektedir³⁰³⁻³⁰⁵. Ağız sağlığının, genel sağlık ve hayata yönelik memnuniyet üzerinde anlamlı bir etkisi olduğu bilinmektedir³⁰⁶⁻³⁰⁷.

Ağız hastalıkları ve ağız kanserleri, periodontal hastalıklar, diş çürükleri ve diş kayıpları; düşük ağız hijyeni, yetersiz beslenme, tütün ve alkol gibi yaygın risk faktörleri ile bağlantılıdır³⁰⁸⁻³¹⁰. Ağız sağlığı ile okur-yazarlık durumu, yaş, ekonomik durum gibi sosyal etkenlerin de ilişkili olduğu bilinmektedir^{311,312}. ABD Sağlık Bakanlığı'na bağlı bir birim tarafından 1964 yılında sunulan raporda, sigara ve düşük ağız hijyeninin ilişkili olduğuna işaret edilmiştir³¹³.

Yetişkinlerde sigaranın OHRQoL üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada³¹⁴, sigara ile düşük OHRQoL arasında anlamlı bir ilişki olduğu ortaya konmuş, en düşük OHRQoL sigara içenlerde, daha iyi OHRQoL sigarayı bırakmış olanlarda ve en iyi OHRQoL hiç sigara içmemiş olanlarda gözlemlenmiştir. Benzer bir çalışmada da aynı anlamlı sonuçlar elde edilmiştir³¹⁵. Sigaranın ve demografik özelliklerin OHRQoL üzerindeki etkisi hakkındaki mevcut bilgiler yetersiz olup, bu alanda yapılacak epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Periodontal hastalığın yetişkinlerde OHRQoL üzerinde negatif etkilerinin olduğu ortaya konmuştur³¹⁶⁻³²⁰. Periodontal hastalığın yaygınlığı ve şiddeti ile düşük OHRQoL arasında bir korelasyon görülmüştür³²¹⁻³²³. Periodontal hastalığa bağlı diş kaybının da aynı şekilde düşük OHRQoL ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir³²⁴. Needleman ve ark.³²⁵, periodontal tedavinin ağız sağlığı ile ilişkili yaşam kalitesinde değişikliklik sağlamanın mümkün olabileceğini işaret etmektedirler. Periodontal hastalık için risk faktörü olan sigaranın, periodontal tedavi sonuçlarını istenmeyen şekilde etkileyebileceği ve OHRQoL üzerinde de olumsuz etki gösterebileceği düşünülmektedir³²⁶⁻³³¹. Periodontal sağlık kriterlerinin değerlendirildiği pilot bir çalışmada³³², sigara ile plak indeksi, kanama skoru ve eğitim düzeyi arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklem Seçimi

Araştırma, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran gönüllü hastalarda yürütülmüştür. Çalışma, 18-25 yaş aralığındaki toplam 60 hasta üzerinde yapılmıştır. Çalışmanın yaş aralığı, diş eti iltihabının ilerlemesiyle meydana gelebilen periodontal doku yıkımının ardındaki zamansal ve nedensel faktörlerden ötürü, genç erişkinlerde³³⁷ periodontitisin ekarte edilmesinin kolay olacağı düşünülerek 18-25 yaş olarak belirlenmiştir³³⁸. Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Etik Kurul Kararı Dosya No: 2019/43).

3.2. Çalışma Planı

Tıbbi ve dental anamnez alındıktan ve demografik bilgiler kaydedildikten sonra hastalar detaylı muayene edilmiştir. Çalışmanın kriterlerine uygun olan ve çalışmaya dahil olmak isteyen hastalar, çalışmanın kapsamı ve amaçları hakkında ayrıntılı şekilde bilgilendirilmiştir. Tüm hastalar gönüllü olur formunu (Form 1) imzalamış ve çalışmaya kendi iradeleriyle katılmak istediklerini bildirmişlerdir.

Sistemik hastalığı olan, 18 yaşından küçük, 25 yaşından büyük, hamile ve emziren, son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmüş, antibiyotik, steroid ilaç ve non-steroid antiinflamatuvar ajan kullanmış, periodontal dokuları etkileyen herhangi bir ilaç kullanan, psikoterapi görmekte olan ve menstruasyon döneminde olan hastalar çalışmanın dışında tutulmuştur. Toplam 87 hasta incelenmiş olup, bu hastaların 60'ı çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastalara anamnez ve demografik bilgilerin yanı sıra sigara kullanımı, genel farkındalık ve ağız bakım alışkanlıkları hakkında sorular da yöneltilmiştir (Form 2). Hastalardan DOS örnekleri toplanmış ve klinik ölçümler kaydedilmiştir. Toplanan DOS örnekleri, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında -80 °C'de muhafaza edildikten sonra ELISA testi ile incelenmiştir. İstatistiksel analizler doğrultusunda elde edilen neticeler yorumlanmıştır.

3.3. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- 1) 18-25 yaş arasında olunması
- 2) Sistemik olarak sağlıklı olunması ve diş eti dokularını etkileyen ilaç kullanılmaması
- 3) Dental plak biyofilmi kaynaklı gingivitis tanısı konması
- 4) Üst ve alt kanin dişlerinin ağızda olması
- 5) Ağızda 20'den fazla diş olması
- 6) Sigara içen hastaların en az 12 aydır günde en az 5 sigara tüketiyor olması³³⁹

3.4. Çalışma Dışında Tutulma Kriterleri

- 1) 18-25 yaş aralığı dışında olunması
- 2) Diş etinin sağlıklı olması durumu
- 3) Dental plak biyofilmi kaynaklı olmayan gingivitis, periodontitis, peri-implanter mukozitis, peri-implantitis, nekrotizan periodontal hastalık veya periodonsiyumun diğer hastalıklarının tanısının konulması
- 4) Periodonsiyum dokularını etkileyen herhangi bir ilaç kullanımı
- 5) Sistemik olarak sağlıklı olunmama durumu (kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar, periferik arter hastalıkları, solunum yolu hastalıkları, zihinsel rahatsızlıklar (örn; depresyon, diyabet, romatoid artrit, osteoporoz gibi...))
- 6) Gebelik durumu
- 7) Ağızdan 20'den az sayıda diş olması

3.5. Klinik İndeksler ve Ölçümler

Bütün ölçümler tek araştırmacı (Rümeysa Cihangir) tarafından UNC15 periodontal sondu (ISO 21672-Hu Friedy, Chicago, IL, USA) kullanılarak yapılmıştır³⁴⁰. Periodontal sondun Uluslararası Standartlar Örgütü (International Organization for Standardization-ISO) tarafından belirlenen karakteristik özellikler şunlardır⁷:

1. Sond ucu çapı 0.5 mm
2. Silindirik yapı
3. Sabit kuvvet sınırlayıcı 0.25 N
4. Çizgili milimetrik işaretlemeler
5. 15-mm ölçeklendirme
6. Taper açısı 1.75°

Araştırma kapsamında değerlendirilen klinik indeks ve ölçümlerdeki olası hataları en aza indirmek için araştırmacının kendi içinde ve başka bir klinisyen ile tekrarlanabilirliği test edilmiştir. Araştırmacın kendi içerisinde tekrarlanabilirliği 10 hastada, başka klinisyen ile tekrarlanabilirliği 5 hastada gerçekleştirilmiştir.

Hastaların tüm dişlerinin meziobukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio lingual/palatinal, mid-lingual/palatinal, disto-lingual/palatinal olmak üzere altı farklı noktadan ölçüm yapılmıştır. Klinik ölçümler, Plak İndeksi (PI), Gingival İndeks (GI), Sondalamada Kanama (SK), Sondalanabilir Cep Derinliği (SCD) ve Diş Eti Kenar Konumu (DKK) parametrelerini içermektedir (Form 3: Klinik Ölçüm Formu).

3.5.1. Plak İndeksi (PI)

Plak varlığı, Silness ve Loe Plak İndeksi³⁴¹ kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm dişlerin izolasyonunu takiben göz ve periodontal sond yardımıyla yapılmıştır. Ölçümler bu indekse göre 0-3 arasında skorlanmaktadır.

Skorlandırma:

- 0:** Gözle görülen ve periodontal sond ile tespit edilen plak yoktur.
- 1:** Gözle zor görülürken periodontal sond ile muayene edilince sondun ucunda plak tespit edilir.
- 2:** Diş eti kenarında gözle görülür plak vardır ancak interdental alan tamamen dolmamıştır.
- 3:** Diş eti kenarı, oluk ve interdental alan gözle görülür bir biçimde plak ile kaplıdır.

3.5.2. Gingival İndeks (GI)

Diş etinin inflamasyon derecesini belirlemek için Silness ve Loe Gingival İndeksi³⁴¹ kullanılmıştır. Bu indekste, diş etinin rengi, kıvamı ve ödem derecesi dikkate alınmaktadır.

Skorlandırma:

- 0:** Normal diş eti
- 1:** Hafif inflamasyon; diş etinin renginde hafif değişiklikler, hafif ödem görülür fakat SK yoktur.

2: Orta inflamasyon; kızarıklık, ödem ve SK görülür.

3: Şiddetli inflamasyon; belirgin kızarıklık, SK ve ödeme ilave olarak ülserasyon ve kendiliğinden kanamaya eğilim görülebilir.

3.5.3. Sondalanabilir Cep Derinliği (SCD)

Sondalanabilir cep derinliği ölçümü, UNC15 periodontal sondu dişin uzun eksenine paralel olarak yerleştirilerek yapılmıştır. Cep tabanı ile diş eti kenarı arasındaki mesafe mm cinsinden ölçülmüştür³⁴¹.

3.5.4. Sondalamada Kanama (SK)

Sondalanabilir cep derinliği ölçümünden sonra dişin etrafındaki altı noktada sondalamada kanama durumu var (+) /yok (-) şeklinde değerlendirilmiştir⁴².

3.5.5. Diş Eti Kenar Konumu (DKK)

Serbest diş eti kenarı ile mine-sement sınırı (MSS) arasındaki mesafe periodontal sond ile mm cinsinden ölçülmüştür. DKK ile MSS birbirine eşit olduğunda mesafe “0” olarak kaydedilmiştir. DKK, MSS’nin kuralinde yer aldığıda “+” değer, apikalinde yer aldığıda “-” değer olarak değerlendirilmiştir. MSS gözle görülmediğinde dokunarak tespit edilmiştir.

3.5.6. Klinik Ataşman Düzeyi (KAD)

Cep tabanından mine-sement sınırına kadar olan mesafe mm cinsinden ölçülmüştür. SCD+DKK işleminin matematiksel sonucu klinik ataşman düzeyini vermektedir.

3.5.7. DMFT İndeksi

DMFT indeksi ilk olarak DSÖ Komitesi tarafından 1962’de, dental hastalık ve durumların bildirilmesini kolaylaştırmak amacıyla ortaya atılmıştır³⁴³. Bu indeks daimi dişler için geçerlidir. Her harf ayrı anlam taşır. D: Çürük diş (Decayed), M: Eksik diş (Missing), F: Dolgulu diş (Filled) anlamına gelir. D, M, F skorları toplanarak ağzın DMFT skoruna ulaşılır.

3.6. Gingivitis Tanısı

Gingivitis tanısı, 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması⁷ esas alınarak konmuştur. UNC15 periodontal sondu tüm dişlerin altı noktasından (meziobukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio lingual/palatinal, mid-lingual/palatinal, disto-lingual/palatinal) sulkusa oturtulmuş ve 30 saniye süreyle beklenmiştir. SK (+) olan yüzeyler not edilmiş ve SK (+) olan yüzeylerin toplam yüzey sayısına olan oranı hesaplanarak ağızın SK yüzdesi bulunmuştur.

SK yüzdesi baz alınarak yapılan gingivitis sınıflaması⁷ şu şekildedir:

SK %10-%30: Lokalize Gingivitis

SK $\geq$ %30: Generalize Gingivitis

Tüm hastalarda ağızın SK değeri %30'dan yüksek olup, tüm hastalar çalışmaya generalize gingivitis tanısı ile dahil edilmiştir.

3.7. Araştırmanın Akışı

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalardan gingivitis tanısı alanlar belirlendikten sonra çalışmaya katılmaya gönüllü olmayanlar elenmiştir. Gönüllü hastalardan tıbbi ve dental anamnez alınmıştır. Anamnezler doğrultusunda çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan hastalar tespit edilmiştir. Hastaların 21 tanesi sigara içmeyen hastalar olup kontrol grubu olarak, 39 tanesi sigara içen hastalar olup test grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir (Şekil 3-1).

Araştırmanın Akışı

Kayıt

- * Bireylerin araştırma hakkında bilgilendirilmesi
- * Gönüllü Olur Formu'nun doldurulup imzalanması
- * Demografik verilerin kaydı
- * Tıbbi ve dental anamnezin kaydı

Ölçüm

- *Diş eti oluk sıvısının toplanması
- *Klinik ölçümlerin yapılması
 - >Plak İndeksi
 - >Gingival İndeks
 - >Sondalanabilir Cep Derinliği
 - >Sondalamada Kanama
 - >Diş Eti Kenar Konumu

Biyokimyasal Değerlendirme

- *Toplanan DOS örneklerinin ELISA testiyle incelenmesi

İstatistiksel Analiz ve Verilerin Yorumlanması

Şekil 3-1. Araştırmanın Akış Şeması

3.8. Diş Eti Oluk Sıvısının Toplanması

DOS örneği alınacak olan sağ üst kanin diş ve sol alt kanin^{161,344} diş plaktan arındırılmıştır. Hijyen fazını takiben vestibül oluğa rulo pamuk yerleştirilerek hava ile nazikçe tükürük izolasyonu yapılmıştır.

Önceden kalibre edilmiş Sartorius® A200S Analitik Hassas Terazî (Göttingen, Germany) (Resim 3-1, Resim 3-2) ile tüm ekipmanların kütlesi mg cinsinden ölçülmüştür^{345,346}. Genişliği 2,55 mm, kalınlığı 0,16 mm ve uzunluğu 6,12 mm olan emici Periopaper™ kağıt stripler (Ora Flow, NY, USA) (Resim 3-3, Resim 3-4) ve hacmi 1,5 ml olan Eppendorf® tüpler (Hamburg, Germany) (Resim 3-5) DOS toplama işleminden hem önce hem de sonra hassas terazî ile tartılmıştır.

Hassas terazinin özellikleri şunlardır:

- * Okunabilirlik: 0,1 mg,
- * Standart sapma: $g \leq \pm 0,0001$
- * Maksimum doğrusallık: $g \leq \pm 0.0002$

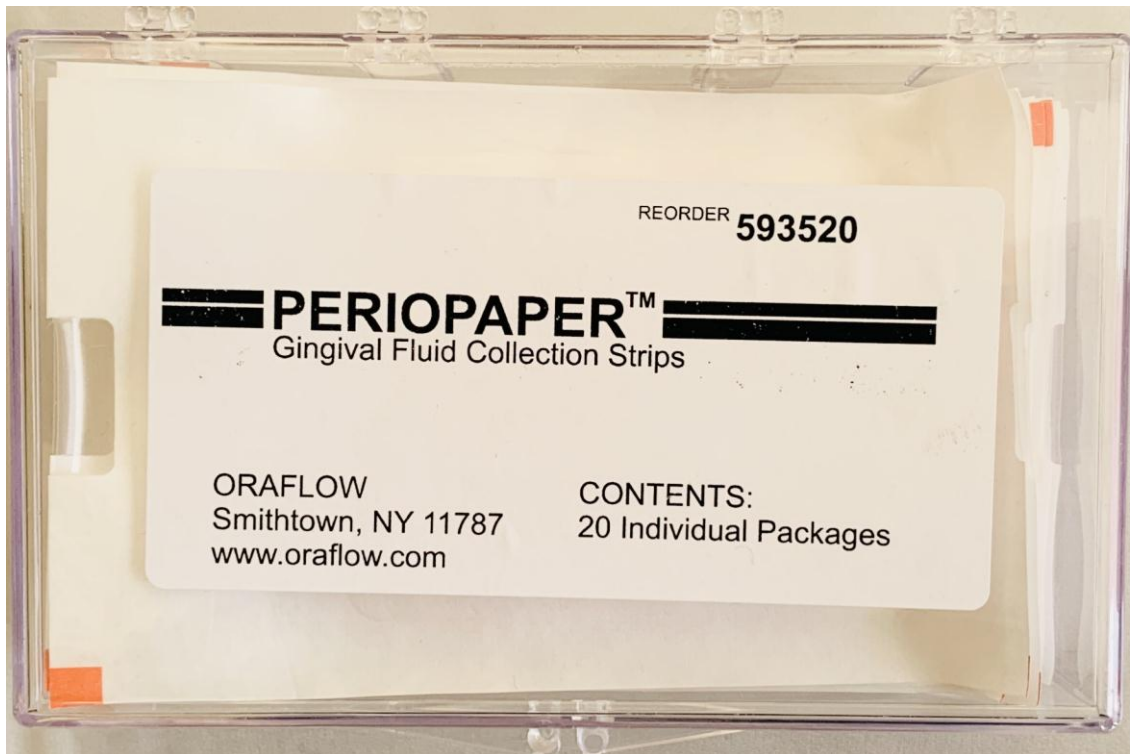
DOS toplama işlemi, Rüdın ve ark.³⁹⁵ tarafından tarif edildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Kütle değeri mg cinsinden kaydedilmiş emici kağıt stripler oluk izolasyonunu takiben dışın distalinden uzun eksenine paralel olacak şekilde oluk içine yerleştirilmiştir. Stripler oluk içinde 30 saniye¹⁶⁵ beklendikten sonra tüplere yerleştirilerek hassas terazide tekrar tartılmıştır. Kaydedilen mg değerlerinin farkı alınarak absorbe edilen DOS kütleleri hesaplanmış ve DOS özgül ağırlığının 1,0 mg/ml olduğu kabul edilerek¹¹ kütleler ml cinsinden hacim değerine çevrilmiştir. Değerler kaydedildikten sonra tüpler olası bir sıvı kaybını bertaraf etmek için Parafilm[®] bantla (Sigma-Aldrich Chemble GMBH, Delsenhofen, Germany) sarılarak -80 °C'ye alınmıştır.



Resim 3-1. Sartorius® A200S Analitik Hassas Terazî



Resim 3-2. Hassas Terazinin Gösterge Paneli



Resim 3-3. Periopaper™ Stripler



Resim 3-4. Periopaper™ Stripler



Resim 3-5. Eppendorf® Tüp

3.9. Biyokimyasal Değerlendirme

Toplandıktan sonra -80 °C 'de Eppendorf® tüplerin içinde saklanan DOS örnekleri, çalışma günü oda sıcaklığında 20 dakika bekletilmiştir. Ardından 300 µl BSA-PBS (Bovin Serum Albumin-Fosfat Tampon Tuz, Bovine Serum Albumin-Phosphate Buffer Saline) Tween tampon çözeltisi (pH:7,4) Eppendorf® tüplerine eklenmiş ve +4 °C'de 20 saat süreyle sallanan platform üzerinde bekletilmiştir. Ertesi gün örnekler oda sıcaklığına alınarak firmanın belirlediği prosedürler doğrultusunda ticari ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) kitleri ile myeloperoksidaz, beta-glukuronidaz ve nötrofil elastaz düzeyleri ölçülmüştür. Ölçülen değerler, toplanan DOS miktarına göre normalize edilmiştir.

Kullanılan gereçler şunlardır:

1. Hassas terazi (Scaltec, Germany)
2. Manyetik karıştırıcı (IKA Labortechnik RH Basic, USA)
3. Mikrotüp santrifüjü (Hettich, Germany)
4. Mikrosantrifüj tüpü (Labosel, TR)
5. Otomatik pipet (Eppendorf, USA)
6. pHmetre (Hanna Instruments, Portugal)
7. Santrifüj cihazı (Heraeus, Germany)
8. Vorteks karıştırıcı (IKA Work Inc. Minishaker, USA)
9. ELISA plaka yıkama sistemi (ESW 300 Medispec, US)
10. Yatay karıştırıcı (IKA-Werke, USA)
11. Mikroplaka spektrofotometre (Biotech, UK)
12. Etüv (Nüve FN400, TR)
13. Bidistile su cihazı (Millipore, USA)

3.9.1. DOS Örneklerinde Belirleyici Düzeylerinin Ölçümü

3.9.1.1. DOS'ta MPO Düzeylerinin Ölçümü

DOS örneklerinin MPO düzeyleri, İstanbul Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda, sandviç ELISA prensibine dayanan Thermo Fisher Scientific marka (Vienna, AUSTRIA, Katalog No: BMS2038INST) ticari kitler ile Eon-Biotek (Winooski/USA) mikroplaka spektrofotometre cihazında ölçülmüştür.

Sonuçlar $\mu\text{g/ml}$ olarak verilmiştir. Kullanılan ticari kit için üretici firma tarafından sensitivite 0,026 ng/ml, intra assay CV <6.2% ve inter assay CV < 9.5% olarak bildirilmektedir.

3.9.1.2. DOS'ta BGD Düzeylerinin Ölçümü

DOS örneklerinin BGD düzeyleri, İstanbul Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda, sandviç ELISA prensibine dayanan MyBioSource (Shanghai, CHINA, Katalog No: MBS774069) ticari kitler ile Eon-Biotek (Winooski/USA) mikropılaka spektrofotometre cihazında ölçülmüştür.

Sonuçlar U/ μl olarak verilmiştir. Kullanılan ticari kit için üretici firma tarafından sensitivite 1.0 U/ml, intra assay CV <10% ve inter assay CV < 15% olarak bildirilmektedir.

3.9.1.3. DOS'ta NE Düzeylerinin Ölçümü

DOS örneklerinin NE düzeyi, İstanbul Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda, sandviç ELISA prensibine dayanan Thermo Fisher Scientific (Vienna, AUSTRIA, Katalog No: MAN0016642) ticari kitler ile Eon-Biotek (Winooski/USA) mikropılaka spektrofotometre cihazında ölçülmüştür.

Sonuçlar $\mu\text{g/ml}$ olarak verilmiştir. Kullanılan ticari kit için üretici firma tarafından sensitivite 1.98 ng/ml, intra assay CV <4.8% ve inter assay CV < 5.6% olarak bildirilmektedir.

3.9.2. Yöntemin Prensibi

Yöntem, ELISA prensibine dayanmaktadır. Bu yöntemde, ilgili parametrelere özgü spesifik antikorla kaplanmış kuyucuklar kullanılmaktadır. DOS örneklerinde bulunan analit, kuyucuklardaki spesifik antikora bağlanır. Daha sonra biotinle işaretlenmiş antikor eklenir ve analite bağlanır. Böylece antikor-antijen-antikor sandviç kompleksi oluşur. Streptavidin-HRP (Horseradish Peroksidaz) işaretli antikorlar ortama eklenir ve biotinle işaretlenmiş olan antikora bağlanır. Kuluçka süresinden sonra yıkama yapılarak ortamdaki bağlanmamış Streptavidin-HRP uzaklaştırılır. Ortama HRP substratı eklenir. Gerçekleşen enzimatik reaksiyon sonucu oluşan renkli ürün miktarı örnekteki analit yoğunluğu ile doğru orantılıdır. Asidik durdurma çözeltisi eklenerek reaksiyon durdurulur. Absorbans değerleri 450 nm'de ölçülür.

3.10. İstatistiksel Değerlendirme

Güç analizi, gingivitis hastalarında sigara içen grupta nötrofil elastazın serum konsantrasyonu ortalaması $2,41 \pm 0,35$ ng/ml iken sigara içmeyen grupta ise $1,86 \pm 0,42$ ng/ml olan ve myeloperoksidazın sigara içen grupta $2,16 \pm 0,45$ ng/ml iken sigara içmeyen grupta $1,53 \pm 0,26$ ng/ml olan literatür değerleri³³⁴ ile gingivitis hastalarındaki sigara içen:içmeyen oranının 2:1 olduğu bilgisinden¹⁹² yola çıkılarak %80 güç ve %95 güven aralığında yapılmıştır. Demografik özellikler, klinik ölçüm sonuçları ve biyokimyasal veriler IBM® SPSS® 27.0 (Statistical Packages for the Social Sciences) programı (Chicago, IL) kullanılarak analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler için deskriptif istatistikler kullanılmıştır (ortalama $\pm$ standart sapma, minimum, medyan ve maksimum). Kategorik değişkenler arasındaki dağılım farkının analizi için Pearson Chi-Square (Ki-Kare) testi yapılmıştır.

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılıma uymayan verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney *U*-testi kullanılmıştır. Normal dağılıma uyan ve varyansları homojen olan değişkenlerinin karşılaştırılmasında Bağımsız Örneklem *T*-testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan değişkenlerin Post-Hoc testi olarak Tukey testi uygulanmıştır.

İki bağımlı değişken arasında ilişki olup olmadığını belirlemek için Pearson korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Risk faktörlerine ilişkin odds oranı 95% güven aralıkları ile ifade edilmiştir ($p < 0,05$ olması durumunda aradaki fark anlamlı kabul edilmiştir).

4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Cinsiyet: Çalışmamıza 21'i kontrol, 39'u test grubu olmak üzere toplam 60 hasta dahil edilmiş olup (Tablo 4-1), dahil edilenlerin %36,7'si (n=22) kadın, %63,3'ü (n=38) erkektir. Kontrol grubunun (n=21) %57,1'i (n=12) kadın ve %42,9'u (n=9) erkek iken, test grubunun (n=39) %25,6'sı (n=10) kadın ve %74,4'ü (n=29) erkektir. Test grubunun istatistiksel olarak anlamlı ölçüde çoğunluğu erkektir (Ki-kare $p < 0,05$) (Tablo 4-2).

Yaş: Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşı 18-25 arasında (ortalama $21,4667 \pm 2,39680$) değişmektedir. Kontrol grubunun yaş ortalaması $21,8095 \pm 2,29388$ iken, test grubunun yaş ortalaması $21,2821 \pm 2,4596$ 'dır. Kontrol ve test grupları arasında yaş düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (Bağımsız Örneklem T-testi $p > 0,05$). Sigara içen ve içmeyenler arasında yaş dağılımı benzerdir (Tablo 4-3).

Beden Kütle İndeksi (BKİ): Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların BKİ ortalaması 23,59'dur. Kontrol grubunun BKİ ortalaması $22,56 \pm 3,35593$ iken, test grubunun $24,14 \pm 3,69113$ 'tür. Sigara içen hastalarda BKİ içmeyenlere kıyasla daha yüksek olsa da, kontrol ve test grupları arasında BKİ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (Bağımsız Örneklem T-testi $p > 0,05$). İki grup arasında BKİ dağılımı benzerdir (Tablo 4-3).

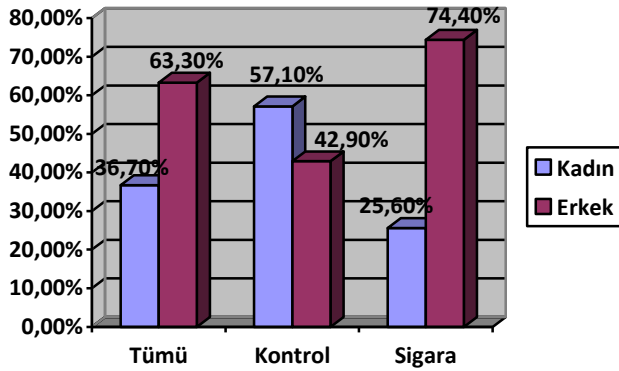
Eğitim Düzeyi: Tüm hastaların %3,3'ü (n=2) ilköğretim, %8,3'ü (n=5) lise, %88,4'ü (n=53) lisans ve üzeri eğitim düzeyindedir (Tablo 4-1). Kontrol grubunun %9,5'i (n=2) lisans altı, %90,5'i (n=19) lisans ve üstü eğitim almışken, test grubunun %12,8'i (n=5) lisans altı, %87,2'si (n=34) lisans ve üstü eğitim almıştır. Kontrol ve test grupları arasında eğitim düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (Ki-kare $p > 0,05$). Sigara ve eğitim düzeyi arasında anlamlı bir ilişki yoktur. İki grupta da eğitim düzeyi dağılımı benzerdir (Tablo 4-2).

Gelir Düzeyi: Tüm hastaların %90'ı (n=54) 3.000 TL altı gelire sahipken, %10'u (n=6) 3.000TL üzeri gelire sahiptir (Tablo 4-1). Kontrol grubunun %90,5'i (n=19) 3.000 TL altı ve %9,5'i (n=2) 3.000 TL üstü gelire sahipken, test grubunun %89,7'si (n=35) 3.000 TL altı ve %10,3'ü (n=4) 3.000 TL üzeri gelire sahiptir. Kontrol

ve test grupları arasında gelir düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (Ki-kare $p>0,05$). İki grupta da gelir düzeyi benzer dağılım göstermektedir (Tablo 4-2).

Tablo 4-1: Araştırmaya Dahil Edilen Tüm Bireylerin Demografik Verilerinin Dağılımı

		N	%
Cinsiyet	Kadın	22	36,7
	Erkek	38	63,3
Eğitim Düzeyi	İlköğretim	2	3,3
	Lise	5	8,3
	Lisans ve Üstü	53	88,4
Gelir Düzeyi	0-3.000 TL	54	90
	3.000 TL +	6	10



Şekil 4-1. Araştırmaya Dahil Edilen Hastaların Cinsiyet Dağılımı Grafiği

Tablo 4-2: Kontrol ve Test Gruplarının Demografik Özellikleri

		Kontrol		Sigara		
		N	%	N	%	p
Cinsiyet	Kadın	12	57,1	10	25,6	*0,016
	Erkek	9	42,9	29	74,4	
Eğitim Düzeyi	Lisans Altı	2	9,5	5	12,8	*0,704
	Lisans ve Üstü	19	90,5	34	87,2	
Gelir Düzeyi	0-3.000 TL	19	90,5	35	89,7	*0,928
	3.000 TL +	2	9,5	4	10,3	

*Ki-kare testi p değeri. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 4-3: Kontrol ve Test Grubunun Yaş ve BKİ Dağılımı

Kontrol n=21			Sigara n=39		
	Ort.±SS	Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS	Med. (Min.-Maks.)	p
Yaş	21,8095±2,29388	21(8-25)	21,2821±2,45966	21(18-25)	*0,421
BKİ	22,5629±3,35593	21,5(15,4-28,4)	24,1431±3,69113	23,8(18,3-29,9)	*0,108

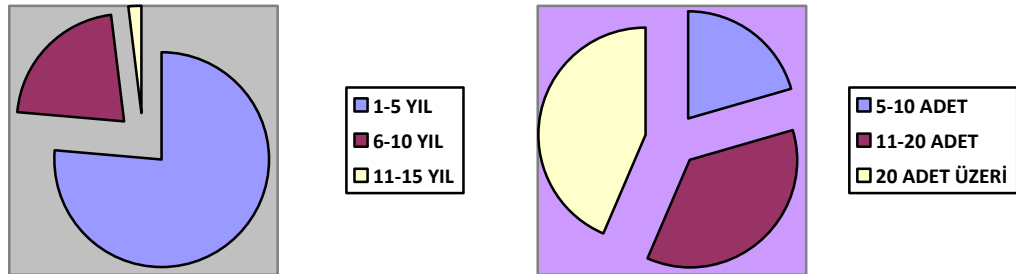
*Bağımsız Örneklem T-testi p değeri. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı

Sigara Kullanım Yılı: Test grubunun %71,8'i (n=28) 1-5 yıldır, %20,5'i (n=8) 6-10 yıldır ve %7,7'si (n=3) 11-15 yıldır sigara kullanmaktadır. Sigara kullanım yılı ortalaması 4,7692'dir (Tablo 4-4).

Sigara Kullanım Miktarı: Sigara içenlerin %20,5'i (n=8) günlük 5-10 adet, %35,9'u (n=14) günlük 11-20 adet ve %43,6'sı (n=17) günlük 20 adetten fazla sigara tüketmektedir. Günlük tüketilen sigara miktarı ortalama 14,7435 adettir (Tablo4-4).

Tablo 4-4: Araştırmaya Katılan Hastaların Sigara Kullanım Yılı ve Miktarları

	N	%	Ortalama
Sigara Kullanım Yılı	1-5 yıl	28	71,8
	6-10 yıl	8	20,5
	11-15 yıl	3	7,7
Sigara Kullanım Miktarı (adet/gün)	5-10 adet/gün	8	20,5
	11-20 adet/gün	14	35,9
	20 + adet/gün	17	43,6



Şekil 4-2. Sigara Kullananların Kullanım Yılı ve Kullanım Miktarları Dağılım Grafikleri

4.2. Ağız Bakım Alışkanlıkları

Günlük Diş Fırçalama: Tüm hastaların %1,7'si (n=1) dişlerini gün içerisinde hiç fırçalamazken, %30'u (n=18) günde bir kez ve %68,3'ü (n=41) günde 2 kez fırçalamaktadır (Tablo 4-4). Kontrol grubunun %19'u (n=4) günde 1 kez ve %81'i (n=17) günde 2 kez diş fırçalamaktadır. Test grubunun %2,6'sı (n=1) gün içerisinde dişlerini hiç fırçalamazken, %35,9'u (n=14) günde 1 kez ve %61,5'i (n=24) günde 2 kez fırçalamaktadır. Kontrol ve test grupları arasında diş fırçalama düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Ki-kare $p>0,05$) (Tablo 4-5).

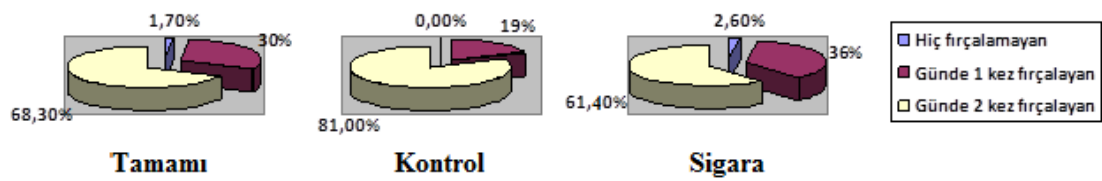
Arayüz Bakımı: Tüm hastaların %65'i (n=39) arayüz bakımı yapmaktayken, %35'i (n=21) yapmamaktadır (Tablo 4-4). Kontrol grubunun %95,2'si (n=20) arayüz bakımı yaparken, test grubunun %48,7'si (n=19) yapmaktadır. Arayüz bakımı yapan hastaların istatistiksel olarak anlamlı ölçüde büyük kısmı sigara içmemektedir (Ki-kare $p<0,05$). Sigara ile arayüz bakım ajanı kullanma arasında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür (Tablo 4-5).

Arayüz bakımı yapan hastaların %58,8'i (n=23) arayüz bakım ajanı olarak diş ipi, %10,2'si (n=4) arayüz fırçası ve %31'i (n=12) kürdan kullanmaktadır (Tablo 4-4). Kontrol grubunda arayüz bakımı yapanların %75'i (n=15) diş ipi, %10'u (n=2) arayüz fırçası ve %15'i (n=3) kürdan kullanmaktadır. Test grubunda ise arayüz bakımı yapanların %42,1'i (n=8) arayüz bakımında diş ipi, %10,5'i (n=2) arayüz fırçası ve %47,4'ü (n=9) kürdan kullanmaktadır. Arayüz bakım ajanı ile sigara arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir (Ki-kare $p>0,05$) (Tablo4-5).

Diş Taşı Temizliği Yaptırma Sıklığı: Tüm hastaların %50'si (n=30) daha önce hiç diş taşı temizliği yaptırmamıştır. Hastaların %8,3'ü (n=5) 6 ayda bir düzenli diş taşı temizliği yaptırırken %41,7'si (n=25) yılda bir veya daha seyrek diş taşı temizliği yaptırdığını bildirmiştir (Tablo 4-4). (Çalışmaya dahil edilme şartlarından biri son 6 ayda diş taşı temizliği yaptırmamış olmaktır.) Kontrol grubunun %42,9'u (n=9) hiç temizlik yaptırmamışken, %14,2'si (n=3) 6 ayda 1 ve %42,9'u (n=9) yılda bir veya daha seyrek diş taşı temizliği yaptırmaktadır. Test grubunun ise %53,8'i (n=21) hiç temizlik yaptırmamışken, %5,2'si (n=2) 6 ayda bir ve %41'i (n=16) yılda bir veya daha seyrek yaptırmaktadır. İki grup arasında, diş taşı temizliği yaptırma sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Ki-kare $p>0,05$) (Tablo 4-5).

Tablo 4-4: Araştırmaya Katılan Hastaların Ağız Bakım Alışkanlıkları

		N	%
Günlük Diş Fırçalama Sayısı	Hiç	1	1,7
	Günde 1 kez	18	30
	Günde 2 kez	41	68,3
Arayüz Bakımı	Var	21	35
	Yok	39	65
Arayüz Bakım Ajanı	Diş ipi	23	58,8
	Arayüz fırçası	4	10,2
	Kürdan	12	31
Diş Taşı Temizliği Yaptırma Sıklığı	Hiç yaptırmamış	30	50
	6 ayda 1	5	8,3
	Yılda bir veya daha seyrek	25	41,7

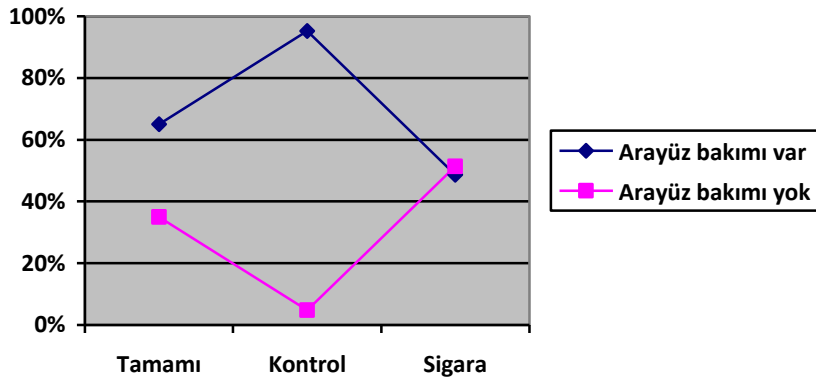


Şekil 4-3. Günlük Diş Fırçalama Dağılımı

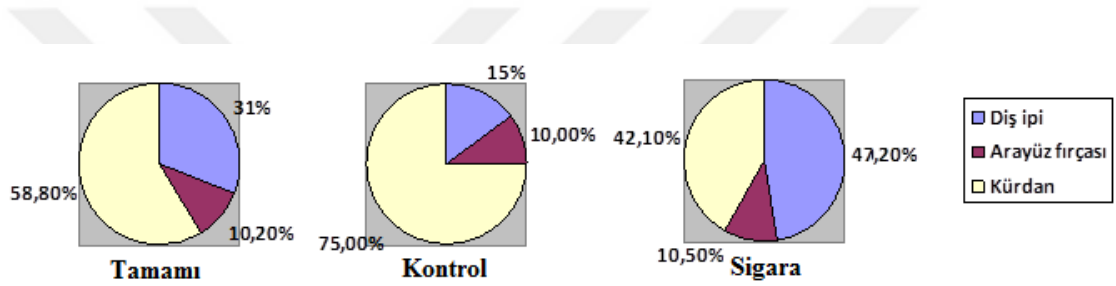
Tablo 4-5: Kontrol ve Test Gruplarında Ağız Bakım Alışkanlıkları Dağılımı

		Kontrol		Sigara		p
		N	%	N	%	
Günlük Diş Fırçalama Sayısı	Hiç	0	0	1	2,6	*0,275
	Günde 1 kez	4	19	14	35,9	
	Günde 2 kez	17	81	24	61,5	
Arayüz Bakımı	Var	20	95,2	19	48,7	*<0,001
	Yok	1	4,8	20	51,3	
Arayüz Bakım Ajanı	Diş ipi	15	75	8	42,1	*0,266
	Arayüz fırçası	2	10	2	10,5	
	Kürdan	3	15	9	47,4	
Diş Taşı Temizliği Yaptırma Sıklığı	Hiç yaptırmamış	9	42,9	21	53,8	*0,424
	6 ayda bir	3	14,2	2	5,2	
	Yılda bir veya daha seyrek	9	42,9	16	41	

*Ki-kare testi p değeri. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4-4. Arayüz Bakımı Dağılımı



Şekil 4-5. Arayüz Bakımı Yapanların Kullandığı Arayüz Bakım Ajanı Dağılımı Grafikleri

4.3. Klinik Ölçüm Verileri

Çalışmaya dahil edilen bireylerin tüm dişlerinin altı yüzeyi için ayrı yapılan klinik ölçümün verileri iki şekilde incelenmiştir:

- 1) Dişlerin altı yüzeyi için ayrı ayrı kaydedilen klinik ölçüm skorlarından, her hastanın ağzının ortalama skoruna ulaşılmış ve bu değerler kıyaslanmıştır.
- 2) DOS toplanan dişlerin klinik ölçüm verilerinin DOS'taki enzim düzeyleri ile ilişkileri araştırılmıştır.

Plak İndeksi: Silness & Loe Plak İndeksi'ne³³⁴ göre skorlama yapılan hastalarda her ağzın ortalama PI değeri hesaplanmış olup araştırmaya dahil edilen bireylerin ortalama PI skoru $1,5644 \pm 0,66128$ 'dir (Tablo 4-6). Kontrol grubunun (n=21) ortalaması $1,1963 \pm 0,50416$ iken, test grubunun (n=39) $1,7627 \pm 0,65570$ 'tir. Test grubunda PI, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (Mann-Whitney U $p < 0,05$). Sigara ile PI arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (Tablo 4-7).

Gingival İndeks: Silness & Loe Plak İndeksi'ne³³⁴ göre skorlanama yapılan hastalarda her ağzın ortalama GI değeri hesaplanmış olup araştırmaya dahil edilen bireylerin ortalama GI skoru $1,6715 \pm 0,29584$ 'tür (Tablo 4-6). Kontrol grubunun (n=21) ortalaması $1,5541 \pm 0,41347$ iken, test grubunun (n=39) $1,7348 \pm 0,18490$ 'dır. Test grubunda GI, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (Bağımsız Örneklem T-testi $p < 0,05$). Sigara ile GI arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Tablo 4-7).

Sondalamada Kanama: SK varsa skor 1, yoksa 0 kabul edilerek her hastanın SK yüzdesi hesaplanmış olup araştırmaya dahil edilen bireylerin ortalama SK yüzdesi $\%71,9331 \pm 15,94247$ 'dir (Tablo 4-6). Kontrol grubunda (n=21) SK yüzdesi ortalama $\%65,3328 \pm 20,00334$ iken, test grubunda $\%75,4871 \pm 12,12337$ 'dir. Test grubunda SK yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde test grubundan daha yüksek olduğu görülmüştür (Bağımsız Örneklem T-testi $p < 0,05$). Sigara ile SK arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. (Tablo 4-7).

Sondalanabilir Cep Derinliği: Her dişin altı yüzeyinden yapılan SCD ölçümü sonucu elde edilen değerlerden her hasta için ortalama bir SCD değeri hesaplanmış olup araştırmaya dahil edilen bireylerin ortalama SCD değeri $1,3710 \pm 0,19196$ mm'dir (Tablo 4-6). Kontrol grubunda (n=21) SCD ortalama $1,3524 \pm 0,17610$ mm iken, test grubunda (n=39) $1,3812 \pm 0,20147$ mm'dir. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Mann-Whitney U $p > 0,05$). Sigara ile SCD arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 4-7).

Klinik Ataşman Düzeyi: SCD ile DKK değerlerinin matematiksel toplamı ile elde edilen değer mm cinsinden klinik ataşman düzeyini verir. Araştırmaya dahil edilen tüm bireylerin KAD ortalaması $1,3619 \pm 0,19797$ mm'dir (Tablo 4-6). Kontrol grubunda (n=21) bu değer $1,3421 \pm 0,54961$ mm iken, test grubunda (n=39) $1,3705 \pm 0,64156$ mm'dir. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Mann-Whitney U $p > 0,05$). Sigara ile KAD arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 4-7).

DMFT: Araştırmaya dahil edilen tüm bireylerin DMFT skoru ortalaması $4,7166 \pm 3,6224$ 'tür. Kontrol grubunda (n=21) bu değer $5,3810 \pm 3,74802$ iken, test grubunda (n=39) $4,3590 \pm 3,55029$ 'dur. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Bağımsız Örneklem T-testi $p > 0,05$). Sigara ile DMFT arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 4-7).

Tablo 4-6: Araştırmaya Dahil Edilen Bireylerin Klinik Ölçüm Verileri

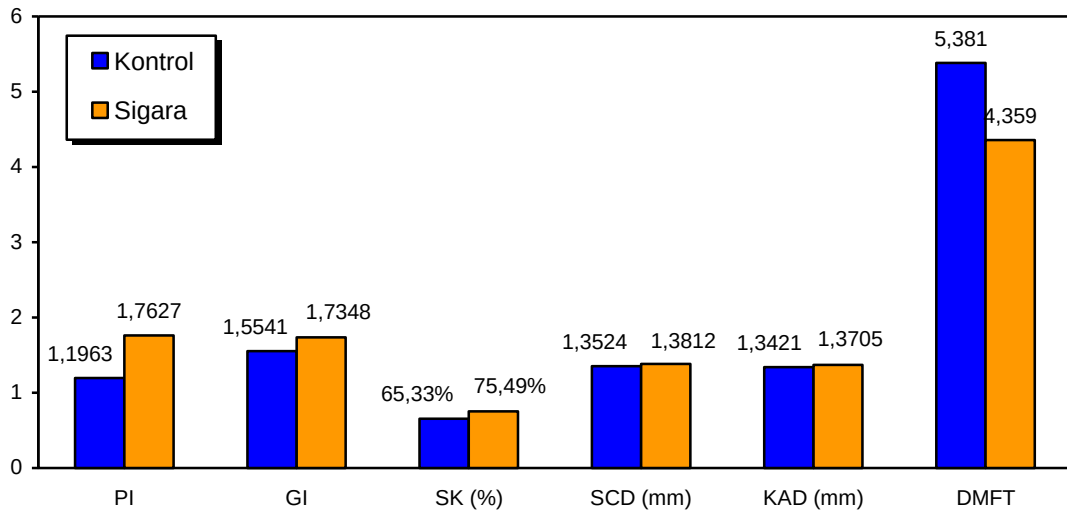
	Ort.	SS	Med. (Min.-Maks.)
PI	1,5645	0,66128	1,5446(0,27-3,0)
GI	1,6716	0,29584	1,7619(0,74-2,54)
SK	71,9331	15,94247	75,8929(32,91-99,31)
SCD	1,3711	0,19196	1,3646(1,01-1,81)
KAD	1,3619	0,19797	1,35185(1,01-1,83)
DMFT	4,7167	3,6224	5(0-15)

Tablo 4-7: Kontrol ve Test Grubunda Klinik Ölçüm Verilerinin Dağılımı

	Kontrol n=21	Sigara n=39	p
PI	Ort.±SS 1,1963±0,50416	Ort.±SS 1,7627±0,65570	*0,002
	Med.(Min.-Maks.) 1,2857(0,27-2,11)	Med.(Min.-Maks.) 1,7857(1,13-1,99)	
GI	Ort.±SS 1,5541±0,41347	Ort.±SS 1,7348±0,18490	**0,023
	Med.(Min.-Maks.) 1,4880(0,74-2,54)	Med.(Min.-Maks.) 1,7738(1,13-1,99)	
SK (%)	Ort.±SS 65,3328±20,00334	Ort.±SS 75,4871±12,12337	**0,017
	Med.(Min.-Maks.) 58,5526(32,91-98,73)	Med.(Min.-Maks.) 78,0(41,07-99,31)	
SCD (mm)	Ort.±SS 1,3524±0,17610	Ort.±SS 1,3812±0,20147	*0,698
	Med.(Min.-Maks.) 1,3680(1,08-1,61)	Med.(Min.-Maks.) 1,3612(1,01-1,81)	
KAD (mm)	Ort.±SS 1,3421±0,54961	Ort.±SS 1,3705±0,64156	*0,664
	Med.(Min.-Maks.) 1,3466(1,08-1,61)	Med.(Min.-Maks.) 1,3571(1,01-1,81)	
DMFT	Ort.±SS 5,3810±3,74802	Ort.±SS 4,3590±3,55029	**0,285
	Med.(Min.-Maks.) 5(0-15)	Med.(Min.-Maks.) (5(0-11)	

*Mann-Whitney U-testi p değeri. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı

**Bağımsız Örneklem T-testi p değeri. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4-6. Kontrol ve Test Gruplarının Klinik Parametrelerinin Kıyaslanması Grafiği

4.4. DOS'ta Enzim Düzeyleri

Üst ve alt çenedeki DOS toplanan kanin dişler için ayrı olarak ölçülmüş enzim değerleri iki aşamada incelenmiştir. İlk aşamada, DOS toplanan üst ve alt kanin dişlerine ait enzim değerlerinin kontrol ve test gruplarındaki durumu karşılaştırılmış ve bu enzim değerleri ile ilgili dişlerin klinik parametreleri arasındaki korelasyonlar incelenmiştir. İkinci aşamada ise, her hastanın üst ve alt kanin dişlerine ait enzim değerlerinin ortalaması alınarak kontrol ve test grupları kıyaslandıktan sonra ortalama enzim değerleri ile ilgili hastanın klinik parametreleri arasındaki korelasyon araştırılmıştır.

Myeloperoksidaz: Kontrol grubunda (n=21) MPO düzeyleri üst dişlerde ortalama $173,8718 \pm 164,00769$ µg/ml ve alt dişlerde ortalama $175,7949 \pm 129,64317$ µg/ml iken, test grubunda (n=39) üst dişlerde ortalama $269,8204 \pm 458,14122$ µg/ml ve alt dişlerde ortalama $307,4138 \pm 331,29081$ µg/ml'dir (Tablo 4-8). DOS'taki MPO seviyeleri hem üst hem de alt dişlerde test grubunda artış göstermektedir. Fakat bu artış üst dişlerde istatistiksel olarak anlamlılık göstermezken (Mann-Whitney U $p > 0,05$), alt dişlerde test grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır. (Mann-Whitney U $p < 0,05$) (Tablo 4-9) (Şekil 4-7).

Tüm ağız ortalama MPO düzeyleri, kontrol grubunda (n=21) $174,8213 \pm 137,23039$ µg/ml iken, test grubunda (n=39) $268,6154 \pm 283,69564$ µg/ml'dir (Tablo 4-10). Kontrol ve test grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Mann-Whitney U $p < 0,05$). Sigara içen grupta DOS MPO düzeylerinde anlamlı bir artış görülmektedir (Tablo 4-11).

DOS'ta MPO düzeyleri ile demografik veriler ve klinik parametreler arasındaki korelasyon incelendiğinde şu bulgulara ulaşılmıştır:

Üst dişlerde **PI** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **GI** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$)

(Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **SK** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **SCD** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **KAD** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12).

Alt dişlerde **PI** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Alt dişlerde **GI** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Alt dişlerde **SK** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da

istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Alt dişlerde **SCD** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Alt dişlerde **KAD** ve **DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Yaş ile tüm ağız **ortalama DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

BKİ ile tüm ağız **ortalama DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

PI ile tüm ağız **ortalama DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

GI ile tüm ağız **ortalama DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da

istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

SK ile tüm ağız **ortalama DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

SCD ile tüm ağız **ortalama DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

KAD ile tüm ağız **ortalama DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

DMFT ile tüm ağız **ortalama DOS MPO** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

Beta-Glukuronidaz: Kontrol grubunda ($n=21$) BGD düzeyleri üst dişlerde ortalama $21,8057 \pm 4,48537$ U/ μ l ve alt dişlerde ortalama $21,7571 \pm 3,65693$ U/ μ l iken, test grubunda ($n=39$) üst dişlerde ortalama $27,1164 \pm 2,82187$ U/ μ l ve alt dişlerde ortalama $26,7923 \pm 2,93220$ U/ μ l'dir (Tablo 4-8). DOS'taki BGD seviyelerinde, hem üst dişlerde hem de alt dişlerde kontrol ve test grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (Mann-Whitney U $p<0,05$). Sigara içen grupta hem üst hem de alt dişlerde DOS BGD düzeylerinde anlamlı artış görülmektedir (Tablo 4-9) (Şekil 4-8).

Tüm ağız ortalama BGD düzeyleri, kontrol grubunda (n=21) $21,7824 \pm 2,95425$ U/ μ l iken, test grubunda (n=39) $26,9547 \pm 2,50785$ U/ μ l'dir (Tablo 4-10). Kontrol ve test grupları arasında iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Mann-Whitney U $p < 0,05$). Sigara içen grupta DOS BGD düzeylerinde anlamlı bir artış görülmektedir (Tablo 4-11).

DOS'ta BGD düzeyleri ile demografik veriler ve klinik parametreler arasındaki korelasyon incelendiğinde şu bulgulara ulaşılmıştır:

Üst dişlerde **PI** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **GI** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **SK** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **SCD** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **KAD** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p > 0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da

istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12).

Alt dişlerde **PI** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,306$ $p=0,017$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13) .

Alt dişlerde **GI** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,362$ $p=0,004$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13) .

Alt dişlerde **SK** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,378$ $p=0,003$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13) .

Alt dişlerde **SCD** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grubu ayrı ayrı incelendiğinde, kontrol grubunda istatistiksel olarak negatif yönde anlamlı korelasyon gözlenirken (Pearson $r=-0,546$ $p=0,010$), test grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Alt dişlerde **KAD** ve **DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grubu ayrı ayrı incelendiğinde, kontrol grubunda istatistiksel olarak negatif yönde anlamlı korelasyon gözlenirken (Pearson $r=-0,546$ $p=0,010$), test grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Yaş ile tüm ağız **ortalama DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$)

(Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

BKİ ile tüm ağız **ortalama DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

PI ile tüm ağız **ortalama DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

GI ile tüm ağız **ortalama DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

SK ile tüm ağız **ortalama DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

SCD ile tüm ağız **ortalama DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

KAD ile tüm ağız **ortalama DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da

istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

DMFT ile tüm ağız **ortalama DOS BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

Nötrofil Elastaz: Kontrol grubunda ($n=21$) NE düzeyleri üst dişlerde ortalama $127,3430\pm75,81616$ $\mu\text{g/ml}$ ve alt dişlerde ortalama $225,0648\pm162,52092$ $\mu\text{g/ml}$ iken, test grubunda ($n=39$) üst dişlerde ortalama $185,7995\pm164,58973$ $\mu\text{g/ml}$ ve alt dişlerde ortalama $416,6831\pm337,77909$ $\mu\text{g/ml}$ 'dir (Tablo 4-8). DOS'taki NE seviyeleri hem üst hem de alt dişlerde test grubunda artış göstermektedir. Fakat bu artış üst dişlerde istatistiksel olarak anlamlılık göstermezken (Bağımsız Örneklem T-testi $p>0,05$), alt dişlerde test grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır (Bağımsız Örneklem T-testi $p<0,05$) (Tablo 4-9) (Şekil 4-9).

Tüm ağız ortalama NE düzeyleri, kontrol grubunda ($n=21$) $176,2043\pm92,64706$ $\mu\text{g/ml}$ iken, test grubunda ($n=39$) $301,2413\pm193,02849$ $\mu\text{g/ml}$ 'dir (Tablo 4-10). Kontrol ve test grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Bağımsız Örneklem T-testi $p<0,05$). Sigara içen grupta DOS NE düzeylerinde anlamlı bir artış görülmektedir (Tablo 4-11).

DOS'ta NE düzeyleri ile demografik veriler ve klinik parametreler arasındaki korelasyon incelendiğinde şu bulgulara ulaşılmıştır:

Üst dişlerde **PI** ve **DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **GI** ve **DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,272$ $p=0,035$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı

incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **SK** ve **DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,269$ $p=0,038$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12) .

Üst dişlerde **SCD** ve **DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12).

Üst dişlerde **KAD** ve **DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-12).

Alt dişlerde **PI** ve **DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,277$ $p=0,032$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Alt dişlerde **GI** ve **DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,258$ $p=0,047$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Alt dişlerde **SK** ve **DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,266$ $p=0,040$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı

incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-13).

Alt dişlerde **SCD** ve **DOS NE** arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,448$ $p<0,001$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmezken (Pearson $p>0,05$), test grubunda istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,539$ $p<0,001$) (Tablo 4-13).

Alt dişlerde **KAD** ve **DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,448$ $p<0,001$) (Tablo 4-13). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmezken (Pearson $p>0,05$), test grubunda istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,539$ $p<0,001$) (Tablo 4-13).

Yaş ile tüm ağız **ortalama DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

BKİ ile tüm ağız **ortalama DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

PI ile tüm ağız **ortalama DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grubu ayrı incelendiğinde, kontrol grubunda istatistiksel olarak negatif yönde anlamlı korelasyon gözlenirken (Pearson $r=-0,497$ $p=0,022$), test grubunda istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

GI ile tüm ağız **ortalama DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,369$ $p=0,004$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grubu ayrı ayrı incelendiğinde, kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmezken (Pearson $p>0,05$), test grubunda istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,576$ $p<0,001$) (Tablo 4-14).

SK ile tüm ağız **ortalama DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,309$ $p=0,016$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grubu ayrı ayrı incelendiğinde, kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmezken (Pearson $p>0,05$), test grubunda istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,384$ $p=0,016$) (Tablo 4-14).

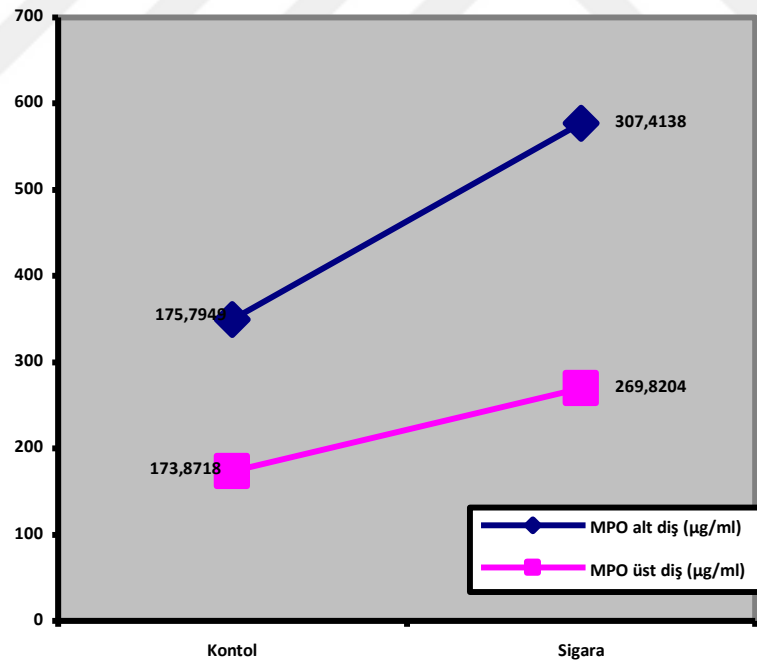
SCD ile tüm ağız **ortalama DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

KAD ile tüm ağız **ortalama DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,275$ $p=0,034$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grubu ayrı ayrı incelendiğinde, kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmezken (Pearson $p>0,05$), test grubunda istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,346$ $p=0,031$) (Tablo 4-14).

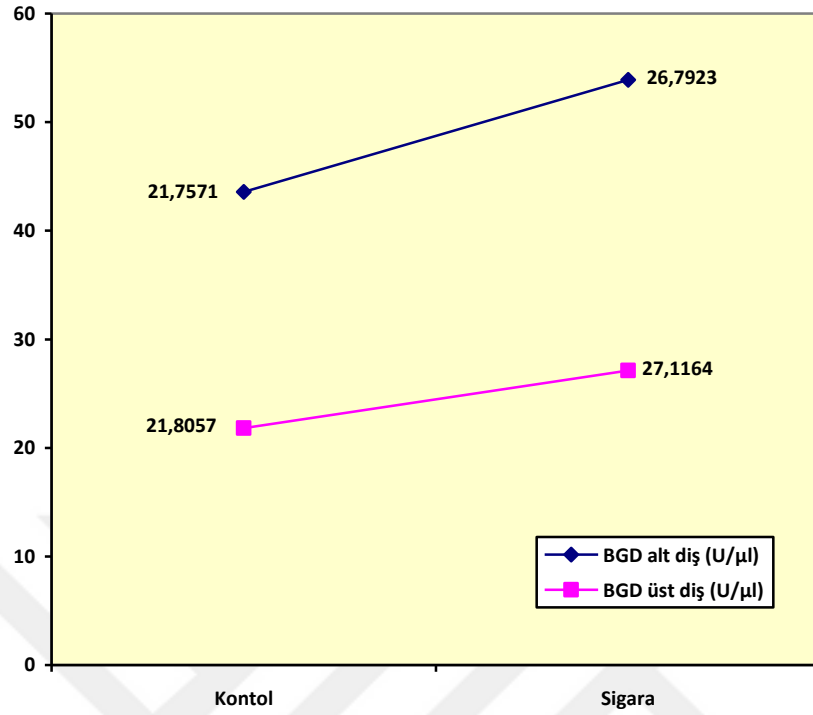
DMFT ile tüm ağız **ortalama DOS NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-14).

Tablo 4-8: Araştırmaya Dahil Edilen Hastaların Üst ve Alt Diş Enzim Düzeyleri

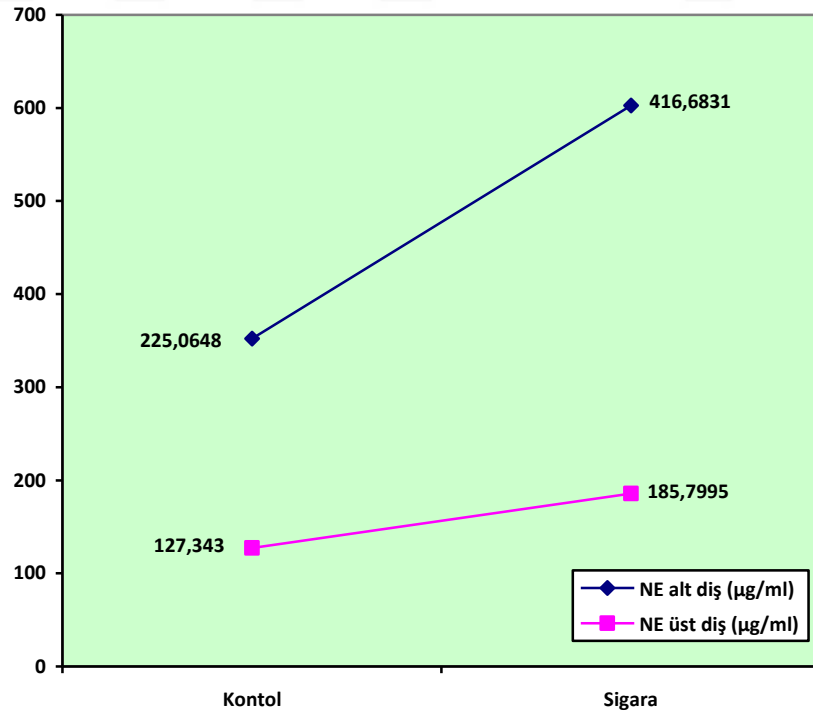
	Ort.	SS	Med. (Min.-Maks.)
MPO üst diş (µg/ml)	236,2384	382,66644	136,6425(22,23-2880,0)
MPO alt diş (µg/ml)	261,3472	283,53849	178,3315(45,06-2000,44)
BGD üst diş (U/µl)	25,2577	4,29809	25,29(15,76-35,23)
BGD alt diş (U/µl)	25,0300	3,99204	25,2550(15,23-3376)
NE üst diş (µg/ml)	165,3397	142,08005	125,98(16,07-701,28)
NE alt diş (µg/ml)	349,6167	301,55122	247,32(26,0-1250,0)



Şekil 4-7. Kontrol ve Test Gruplarının Üst ve Alt Diş MPO Düzeylerinin Kıyaslanması Grafiği



Şekil 4-8. Kontrol ve test gruplarının üst ve alt diş BGD düzeylerinin kıyaslanması grafiği



Şekil 4-9. Kontrol ve test gruplarının üst ve alt diş NE düzeylerinin kıyaslanması grafiği

Tablo 4-9: Kontrol ve Test Gruplarının Üst ve Alt Diş Enzim Düzeylerinin Kıyaslanması

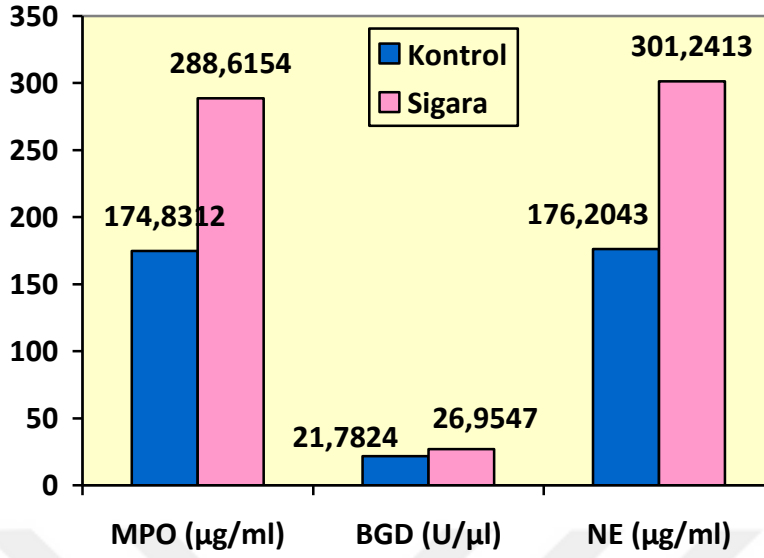
		Kontrol n=21	Sigara n=39	P
MPO	Ort.±SS	173,8718±164,00769	Ort.±SS 269,8204±458,14122	*0,295
	Med.(Min.-Maks.)	118,3800(32,27-750,48)	Med.(Min.-Maks.) 152,5600(22,23-2880,0)	
Üst diş	Ort.±SS	175,7949±129,64317	Ort.±SS 307,4138±331,29081	*0,039
	Med.(Min.-Maks.)	154,4(45,06-478,53)	Med.(Min.-Maks.) 215,13(54,69-2000,44)	
MPO	Ort.±SS	21,8057±4,48537	Ort.±SS 27,1164±2,82187	*0,000
	Med.(Min.-Maks.)	21,36(15,76-35,23)	Med.(Min.-Maks.) 26,97(21,8-33,38)	
Üst diş	Ort.±SS	21,7571±3,65693	Ort.±SS 26,7923±2,93220	*0,000
	Med.(Min.-Maks.)	21,39(15,23-29,87)	Med.(Min.-Maks.) 27,06(20,31-33,76)	
BGD	Ort.±SS	127,3430±75,81616	Ort.±SS 185,7995±164,58973	**0,130
	Med.(Min.-Maks.)	111,24(16,07-277,02)	Med.(Min.-Maks.) 140,8114(16,18-701,28)	
Üst diş	Ort.±SS	225,0648±162,52092	Ort.±SS 416,6831±337,77909	**0,018
	Med.(Min.-Maks.)	179,52(61,8-794,76)	Med.(Min.-Maks.) 315,0(26,0-1250,0)	
NE	Ort.±SS			
	Med.(Min.-Maks.)			

*Mann-Whitney U-testi p değeri. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı

**Bağımsız Örneklem T-testi p değeri. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 4-10: Araştırmaya Dahil Edilen Hastaların Ortalama Enzim Düzeyleri

	Ort.	SS	Med. (Min.-Maks.)
Ortalama MPO (µg/ml)	248,7909	247,41820	182,48(45,21-1495,18)
Ortalama BGD (U/µl)	25,1444	3,63297	25,3450(17,72-33,57)
Ortalama NE (µg/ml)	257,4783	174,71318	202,5025(47,76-756,6)



Şekil 4-10. Kontrol ve Test Gruplarının Ortalama Enzim Düzeylerinin Kıyaslanması Grafiği

Tablo 4-11: Kontrol ve Test Gruplarının Ortalama Enzim Düzeylerinin Kıyaslanması

		Kontrol n=21	Sigara n=39	p
MPO (ortalama)	Ort.±SS	174,8312±137,23039	288,6154±283,69564	*<0,001
	Med.(Min.-Maks.)	124,62(45,21-580,25)	187,5(65,74-1495,18)	
BGD (ortalama)	Ort.±SS	21,7824±2,95425	26,9547±2,50785	*0,027
	Med.(Min.-Maks.)	21,855(17,72-28,09)	26,905(22,65-33,57)	
NE (ortalama)	Ort.±SS	176,2043±92,64706	301,2413±193,02849	**0,007
	Med.(Min.-Maks.)	174,72(57,12-454,75)	300,96(47,76-756,6)	

*Mann-Whitney U-testi p değeri. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı

**Bağımsız Örneklem T-testi p değeri. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 4-12: Üst Diş Enzim Düzeyleri ile Klinik Ölçüm Verilerinin Korelasyonu

		Kontrol n=21			Sigara n=39			Tümü n=60		
		MPO	BGD	NE	MPO	BGD	NE	MPO	BGD	NE
PI	r	0,015	-0,367	-0,147	0,101	0,104	0,095	0,115	0,098	0,105
	p	0,949	0,102	0,524	0,542	0,529	0,565	0,382	0,456	0,425
GI	r	0,303	-0,196	0,269	-0,134	-0,024	0,234	-0,025	0,091	0,272
	p	0,182	0,394	0,239	0,417	0,885	0,152	0,851	0,490	0,035
SK	r	0,248	-0,063	0,133	-0,052	-0,036	0,253	0,026	0,137	0,269
	p	0,278	0,785	0,566	0,754	0,827	0,120	0,844	0,297	0,038
SCD	r	-0,137	-0,018	0,087	0,044	0,090	0,193	0,038	0,108	0,196
	p	0,555	0,937	0,707	0,789	0,585	0,240	0,773	0,413	0,134
KAD	r	-0,137	-0,018	0,087	0,044	0,090	0,193	0,038	0,108	0,196
	p	0,555	0,937	0,707	0,789	0,585	0,240	0,773	0,413	0,134

Pearson Korelasyon Testi. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 4-13: Alt Diş Enzim Düzeyleri ile Klinik Ölçüm Verilerinin Korelasyonu

		Kontrol n=21			Sigara n=39			Tümü n=60		
		MPO	BGD	NE	MPO	BGD	NE	MPO	BGD	NE
PI	r	-0,194	0,276	-0,340	-0,055	0,053	0,310	0,010	0,306	0,277
	p	0,400	0,226	0,131	0,738	0,750	0,055	0,938	0,017	0,032
GI	r	0,132	0,006	0,124	0,133	0,171	0,165	0,201	0,362	0,258
	p	0,568	0,980	0,592	0,421	0,298	0,315	0,124	0,004	0,047
SK	r	-0,071	0,054	0,199	0,106	0,161	0,140	0,155	0,378	0,266
	p	0,759	0,817	0,387	0,522	0,329	0,394	0,236	0,003	0,040
SCD	r	0,016	-0,546	0,015	0,116	-0,016	0,539	0,115	0,102	0,448
	p	0,945	0,010	0,948	0,482	0,921	<0,001	0,383	0,440	<0,001
KAD	r	0,016	-0,546	0,015	0,116	-0,016	0,539	0,115	0,102	0,448
	p	0,945	0,010	0,948	0,482	0,921	<0,001	0,383	0,440	<0,001

Pearson Korelasyon Testi. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 4-14: Ortalama Enzim Düzeyleri ile Klinik ve Demografik Verilerin Korelasyonu

		Kontrol n=21			Sigara n=39			Tümü n=60		
		MPO	BGD	NE	MPO	BGD	NE	MPO	BGD	NE
Yaş	r	-0,263	-0,057	-0,121	-0,096	0,027	0,076	-0,143	-0,075	-0,002
	p	0,249	0,807	0,600	0,562	0,869	0,648	0,274	0,274	0,987
BKİ	r	0,084	-0,420	-0,203	-0,060	0,211	0,092	0,016	0,132	0,105
	p	0,717	0,058	0,378	0,718	0,198	0,579	0,903	0,316	0,426
PI	r	0,188	-0,338	-0,497	0,051	0,000	0,209	0,156	0,211	0,221
	p	0,415	0,134	0,022	0,757	0,999	0,203	0,235	0,106	0,090
GI	r	0,038	-0,404	0,049	-0,006	0,104	0,576	0,072	0,074	0,369
	p	0,869	0,069	0,834	0,973	0,528	<0,001	0,582	0,572	0,004
SK	r	0,123	-0,359	-0,019	0,030	0,122	0,384	0,114	0,127	0,309
	p	0,596	0,110	0,936	0,855	0,459	0,016	0,387	0,334	0,016
SCD	r	-0,140	0,125	-0,033	0,050	-0,160	0,308	0,031	0,007	0,250
	p	0,545	0,588	0,888	0,762	0,331	0,056	0,816	0,961	0,054
KAD	r	-0,133	0,110	-0,032	0,062	-0,102	0,346	0,039	0,024	0,275
	p	0,566	0,634	0,891	0,707	0,538	0,031	0,766	0,854	0,034
DMFT	r	0,153	0,096	-0,097	0,045	-0,030	-0,068	0,092	0,107	-0,019
	p	0,508	0,680	0,675	0,785	0,857	0,679	0,483	0,415	0,885

Pearson Korelasyon Testi. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı

DOS MPO, BGD ve NE düzeylerinin birbirleriyle olan ilişkileri incelendiğinde şu bulgulara ulaşılmıştır:

DOS MPO düzeyleri ile **BGD** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson p>0,05) (Tablo 4-15). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson p>0,05) (Tablo 4-15).

DOS MPO düzeyleri ile **NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson p>0,05)

(Tablo 4-15). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-15).

DOS BGD düzeyleri ile **NE** düzeyleri arasında tüm hastalar birlikte incelendiğinde, istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Pearson $r=0,321$ $p=0,006$) (Tablo 4-15). Kontrol ve test grupları ayrı ayrı incelendiğinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-15).

Tablo 4-15: Enzim Düzeylerinin Birbiriyle Olan Korelasyonları

		Kontrol n=21			Sigara n=39			Tümü n=60		
		MPO	BGD	NE	MPO	BGD	NE	MPO	BGD	NE
MPO	r		-0,089	-0,156		0,086	0,134		0,181	0,170
	p		0,701	0,498		0,604	0,416		0,083	0,097
BGD	r	-0,089		0,107	0,086		0,142	0,181		0,321
	p	0,701		0,645	0,604		0,388	0,083		0,006
NE	r	-0,156	0,107		0,134	0,142		0,170	0,321	
	p	0,498	0,645		0,416	0,388		0,097	0,006	

Pearson Korelasyon Testi. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı

Sigara içen grupta DOS'taki MPO, BGD ve NE düzeyleri ile sigara kullanım yılı ve günlük sigara tüketim miktarı arasındaki korelasyonlar incelendiğinde şu bulgulara ulaşılmıştır:

DOS MPO düzeyleri ile **sigara kullanım yılı** arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-16).

DOS MPO düzeyleri ile **sigara kullanım miktarı** arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-16).

DOS BGD düzeyleri ile **sigara kullanım yılı** arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-16).

DOS BGD düzeyleri ile **sigara kullanım miktarı** arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-16).

DOS NE düzeyleri ile **sigara kullanım yılı** arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-16).

DOS NE düzeyleri ile **sigara kullanım miktarı** arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Pearson $p>0,05$) (Tablo 4-16).

Tablo 4-16: Test Grubunda Enzim Düzeyleri ile Sigara Kullanım Yılı ve Miktarı Arasındaki Korelasyonlar

		Sigara (n=39)		
		MPO ($\mu\text{g/ml}$)	BGD ($\text{U}/\mu\text{l}$)	NE ($\mu\text{g/ml}$)
Sigara Kullanım Yılı	r	-0,121	-0,082	-0,129
	p	0,461	0,621	0,434
Sigara Kullanım Miktarı	r	-0,097	-0,039	-0,235
	p	0,556	0,814	0,150

Pearson Korelasyon Testi. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı

5. TARTIŞMA

5.1. Gereç ve Yöntemin Tartışması

Çalışmamız, 2019 yılında İstanbul Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran toplam 60 hasta üzerinde yürütülmüştür. Çalışma kesitel olarak planlanmış gözlemsel bir çalışmadır. Kontrol ve test grubu olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır. Her iki grup da, dental plak biyofilmi kaynaklı gingivitis tanısı konmuş sistemik olarak sağlıklı 18-25 yaş aralığındaki bireylerden oluşmaktadır. Kontrol grubu sigara içmeyen hastalardan oluşurken test grubu sigara içen hastalardan oluşmaktadır. Her iki grup da, çalışmaya dahil edilme şartlarını sağlayan bireylerin randomize seçilmesiyle oluşturulmuştur. Sigara içen hastaların en az 12 aydır günde en az 5 adet sigara tüketiyor olması şart koşulmuştur³³⁸. Tüm bireylerde, son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmemiş olma, menstüasyon dönemi dışında olma, antibiyotik, steroid ilaç ve non-steroid antiinflatuvar ajan kullanmamış olma, periodontal dokuları etkileyen herhangi bir ilaç kullanmama ve hamile olmama şartları aranmıştır.

Gingivitisin, tedavi edilmediğinde zamanla periodontal yıkımla sonuçlanabildiği bilinmektedir³⁵. Yaş, periodontal hastalıklarda bilinen en belirgin risk faktörüdür. Değerlendirdiğimiz başka bir risk faktörü olan sigaranın etkilerini daha iyi gözlemleyebilmek amacıyla, yaş faktörünün etkisini olabildiğince sınırlandırmak amaçlanmıştır. Ayrıca periodontal hastalık etyopatogenezi göz önünde bulundurulduğunda, zaman faktörünün periodontal yıkım üzerindeki etkisinden ötürü tanı safhasında periodontitisi ekarte etmede kolaylık sağlayacağı düşünüldüğünden³³⁸, yaş grubu genç erişkin³³⁷ dönemle sınırlandırılmıştır. Araştırmamızın örneklem sayısı, Bergström¹⁹² ve Buduneli'nin³³⁴⁻³³⁶ çalışmaları incelenerek, hata payını en aza indirmek için yalancı anlamlılığa sebebiyet vermeyecek şekilde hesaplanmıştır. Gingivitis hastalarında sigara içen grupta nötrofil elastazın serum konsantrasyonu ortalaması $2,41 \pm 0,35$ ng/ml iken sigara içmeyen grupta ise $1,86 \pm 0,42$ ng/ml olan ve myeloperoksidazın sigara içen grupta $2,16 \pm 0,45$ ng/ml iken sigara içmeyen grupta $1,53 \pm 0,26$ ng/ml olan literatür değerleri³³⁴ ile gingivitis hastalarındaki sigara içen:içmeyen oranının 2:1 olduğu bilgisinden¹⁹² yola çıkılarak %80 güç ve %95 güven düzeyinde hesaplanan örneklem sayısı 13:7 oranıyla toplam 20 kişi bulunmuş olup kayıplar için 2 kat arttırılarak nihai örneklem sayısı 39:21 olmak üzere toplam 60 kişi

olarak belirlenmiştir. Literatür incelendiğinde, test ve kontrol grubu örneklem sayısı seçiminde net sınırlar olmadığı görülmüştür. Bu konuda Türkiye’de yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde, kontrol grubunun örneklem sayısının test grubunun örneklem sayısından az olduğu^{334-336,347,348} ya da iki grubun örneklem sayısının birbirine eşit olduğu^{349,350} gözlenmiştir. Klinik ve biyokimyasal bir çalışma için, örnek çalışmalar göz önünde bulundurularak yapılan hesaplamalar doğrultusunda örneklem sayısının 60 olarak belirlenmesinin uygun olacağı düşünülmüştür.

Periodontal hastalığın önlenbilmesi için, geri dönüşümsüz periodontal doku yıkımının henüz gerçekleşmemiş olduğu gingivitis safhasının tam olarak anlaşılması gerekir. Gingivitisin teşhis ve tedavisi olduğu kadar, risk faktörleri de hassasiyetle ele alınmalıdır. Bu bağlamda, genel sağlık için olduğu kadar periodontal hastalık için de büyük bir risk faktörü olduğu genel kabul görmüş olan sigaranın¹², periodontal hastalık ile ilişkisini araştırmayı hedefledik. Yaptığımız literatür taramasında, gingivitis ve sigara ilişkisini inceleyen çalışmaların periodontitis çalışmalarına göre daha kısıtlı sayıda olduğunu gördük. Bunun yanı sıra, yaygın kullanımı olan sigaranın, toplumda oldukça yaygın görülen gingivitis ile ilişkisinin periodontitis kadar araştırılmadığını gözlemledik.

Periodontal hastalıklar, geçmiş yıllarda birden çok kez sınıflandırılmıştır³⁹⁻⁴¹. Sınıflamalar, epidemiyolojik çalışmalarda evrenselliği sağlamanın yanı sıra, klinik pratiğinde teşhis ve tedaviyi kolaylaştırmayı da hedeflemektedir. Periodontal hastalıkların hali hazırda kabul edilen 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması’na⁷ göre gingivitis de çeşitli açılardan revize edilmiştir. 2017 sınıflaması, histolojik düzeyde inflamasyon görülmesinin, klinikte periodontal hastalık tanısı koymak için yeterli olmadığını gündeme getirmiştir. Böylelikle, histolojik sağlık ile klinik sağlık kavramları birbirinden ayrı ele alınmış ve gingivitisin tanı kriterleri netleştirilmiştir.

Çalışmamıza dahil edilen hastalar, 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması⁷ esas alınarak gingivitis tanısı konmuş hastalardır. Aktif lezyonu tanımlamak için, van der Velden³⁷¹ tarafından önerildiği üzere ölçüm yapılan yüzeylerdeki SK varlığının yüzdesi esas alınmıştır. Çalışmamızda, çeşitli çalışmalarörnek alındığı üzere^{17,178,333-335}, periodontal değerlendirilme için, PI, GI, SCD ve KAD parametrelerinden yararlanılmıştır. Literatürde Community Periodontal Index

of Treatment Needs (CPITN)³⁹⁸ değerlendirilen çalışmalar da mevcuttur. Ölçümler, ağzın genel durumunu daha iyi nakledebilmek için her dişin altı noktasından (meziobukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual/palatinal, mid-lingual/palatinal, disto-lingual/palatinal)³³⁵ yapılmıştır. Tüm ölçümler aynı araştırmacı (Rümeysa Cihangir) tarafından gerçekleştirilmiştir. Araştırma kapsamında değerlendirilen klinik indeks ve ölçümlerdeki olası hataları en aza indirmek için araştırmacının kendi içinde ve başka bir klinisyen ile tekrarlanabilirliği test edilmiştir. Araştırmacın kendi içerisinde tekrarlanabilirliği 10 hastada, başka klinisyen ile tekrarlanabilirliği 5 hastada gerçekleştirilmiştir.

Doğal ve kazanılmış bağışık yanıtın periodontal hastalık ile ilişkisi yapılan çeşitli çalışmalarla^{19,36,67,217} ortaya konmuştur. Bağışıklık sisteminin hücresel ve humoral elemanlarının hastalığın seyri ve şiddeti hakkında fikir verdiği görülmüştür^{2-4,37}. Bu bağlamda, bazı araştırmacılara¹⁶³ göre inflamatuvar bir eksuda olarak değerlendirilen diş eti oluşu sıvısındaki humoral elemanların miktarı ve aktivitesi, hastalığın anlaşılması için başvuru bir gösterge haline gelmiştir^{161,171,183,348}. Literatür incelendiğinde, DOS'ta araştırılan sitokin^{150,333} ve enzim^{8-11,148-188,353} gibi parametrelerin çeşitlilik gösterdiği görülmüştür. Literatürde DOS'ta MPO, BGD ve NE enzimlerinin incelendiği pek çok çalışma mevcuttur. Bahsi geçen üç enzimin DOS'ta birlikte incelendiği çalışmalar kısıtlı^{351,352} olup, bu enzimlerin gingivitis ile birlikte araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu enzimler, periodontal hastalığın erken evrelerinde rol oynadığından, periodontal hastalığın teşhisinde bu enzimlerin yardımcı olabileceği düşünülmektedir¹⁶⁶⁻¹⁶⁸. Bu açıdan çalışmamızın literatüre katkı sağlaması beklenmektedir. Bu açıdan çalışmamızın literatüre katkı sağlaması beklenmektedir.

Diş eti oluşu sıvısının incelendiği çalışmalarda literatürde DOS toplanan dişlerin seçimi çeşitlilik göstermektedir. DOS, bazı çalışmalarda birinci büyük azı³⁵³⁻³⁵⁵, ikinci ve üçüncü büyük azı^{162,356} dişleri ile kesici^{184,343} ve kanin^{343,357} dişlerinden, bazı çalışmalarda ise hastanın periodontal hastalığının en şiddetli görüldüğü dişlerinden³⁵⁸⁻³⁶⁰ toplanmıştır. Bunların yanı sıra literatürde, hastanın her dişinin birer yüzeyinden DOS toplanan çalışmalar da mevcuttur^{161-168,361}. Ön dişlerden toplanan DOS hacminin arka dişlere göre daha yüksek olduğu görülmüştür³⁴³. van der Weijden ve ark.²⁷⁵, sigara içen ve içmeyenler arasında klinik bulgulardaki en büyük farklılığın ön bölgede görüldüğünü bildirmiştir. Ön bölgede tükürük ile plak izolasyonunun daha etkili

yapılabilmesinden ötürü hata payını en aza indirmek için ve sigaranın tüketimi esnasında ön bölgenin sigaraya maruz kalmasına bağlı olarak lokal etkilerin de daha iyi gözlenebilir olması nedeniyle ön bölge dişlerinden DOS toplanmasına karar verilmiştir. Hacimce daha iri bir diş olması nedeniyle toplanacak DOS miktarının daha fazla olacağı düşünüldükten kanin dişlerinden DOS toplanmıştır.

DOS toplamak için literatürde çeşitli yöntemler mevcuttur³⁴⁵. Literatürde, diş eti oluşu yıkama^{226,333}, mikropipet^{167,362,358,360} ve kağıt strip^{348,353-359,361} yöntemlerinden en sık tercih edileninin kağıt strip yöntemi olduğu görülmüştür. Çalışmamızda DOS örnekleri, uygulama kolaylığı nedeniyle emici kağıt stripler (Periopaper®, Ora Flow) ile toplanmıştır³⁹⁵. Toplanan kağıt striplerdeki DOS miktarını değerlendirmek için, literatürde genellikle Periotron® (Ora Flow, NY, USA) cihazı kullanılmıştır. Çalışmamızda, bu yöntem alternatif olan hassas terazi^{11,186,364-366} tercih edilmiştir. DOS toplanmadan önce ve toplandıktan sonra kağıt stripler ile striplerin bulunduğu Eppendorf® tüpler, önceden kalibre edilmiş yüksek hassasiyetli analitik terazi (Sartorius® A200S, Germany) ile tartılmıştır. Önceki ve sonraki değerler arasında aritmetik fark toplanan DOS kütlesini vermektedir. DOS özgül ağırlığı 1,0 mg/ml kabul edilerek¹¹ hesaplanan değerler hacim değerine çevrilmiştir. Sıvı kaybını en aza indirmek için tüpler, sızdırmaz Parafilm® bant ile sarılmış ve biyokimyasal analiz gününe kadar -80 °C’de muhafaza edilmiştir.

Diş eti oluk sıvısının moleküler ve hücresel bileşenleri, spektrofotometre^{171,226,285,348,369}, polimeraz zincir reaksiyonları³⁶⁷, immunofloresan testi¹⁶⁶ ve elektroforez¹⁸⁴ gibi tekniklerle incelenmektedir. Çalışmamızda, diş eti oluşu sıvısında sandviç ELISA prensibiyle spektrofotometre cihazında inceleme yapılmıştır. Elde edilen enzim değerleri, toplanan DOS hacmine göre normalize edilerek istatistiksel değerlendirmesi yapılmıştır.

Çalışmamızda, tıbbi ve dental anamnez alınması, DOS örneklerinin toplanması ve klinik ölçümler aynı seansta gerçekleştirilmiştir. Literatüre bakıldığında, yapılan kesitsel çalışmalarda benzer yol izlendiği görölse de^{162,226,333}, Akalın ve ark.³⁷⁰ periodontal ölçümleri ve DOS örneklerinin toplanmasını 1 hafta ara ile ayrı seanslarda gerçekleştirmişlerdir.

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin son 6 ay içerisinde periodontal dokuları etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanmamamış olmasına, gebelik ve menstruasyon

döneminde olmamasına ve son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmemiş olmalarına dikkat edilmiştir.

5.2. Bulguların Tartışması

Sigara, kanser dahil olmak üzere pek çok hastalığın prevalansı ve insidansı ile ilişkilendirilmektedir³⁷². Farklı araştırmacılar tarafından periodontal hastalık için risk faktörü olarak tanımlanmış ve 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması'nda⁷, periodontal hastalık için sistemik risk faktörü olarak yer almıştır^{192,193,324,373}. Periodontal dokular üzerinde mikrobiyal dental plaktan bağımsız bir etkisi olabileceği düşünülmektedir^{246-249,374}. Sigaranın, gingivitiste periodonsiyum üzerindeki etkileri konusunda farklı görüşler mevcuttur. Bazı araştırmacılar³⁷⁵⁻³⁷⁹, sigara içenlerde diş etinde daha şiddetli inflamasyon görüldüğünü rapor etmiştir. Bunların yanı sıra, sigara içenlerle içmeyenler arasında anlamlı bir fark görülmediğini^{42,380} ya da sigara içenlerde daha düşük derecede inflamasyon görüldüğünü bildiren çalışmalara da rastlanmaktadır^{246-249,255-265}. Müller ve ark.^{21,22}, plak ve kanama skorlarının sigara içen hastalarda arttığını ortaya koymuşlardır. Baab ve ark.²³, nikotinin diş etinin kanlanmasına etkisini araştırdıkları çalışmada, lazer Doppler akımölçer ile sigara içildiği esnada ölçülen diş etinin kan akışında herhangi bir değişiklik bulunmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Buradan yola çıkarak, sigaranın akut ve kronik etkilerinin farklı olabileceğini öne sürmektedirler. Meekin ve ark.³⁸¹ da benzer bir sonuç elde ederek, sonuçların sigaranın periodontal dokularda lokal vazokonstriksiyona yol açtığı teorisini desteklemediğini vurgulamaktadırlar. Palmer²³⁴ ve Mavropoulos²³⁵ ise, lazer Doppler akımölçer ile yaptıkları çalışmalarda, sigara içildiği esnada diş etinde kan akışının arttığını görmüşlerdir. Ulaştıkları bulgular, sistemik nikotin alımının kan basıncını, kalp atış hızını ve solunum hızını arttırdığı bilgisini desteklemektedir¹⁹⁷⁻¹⁹⁹. Bahsi geçen çalışmalarda elde edilen neticelerin farklılık göstermesi, kan akışı ölçülen diş etinin inflamasyon derecesinden ya da sigara kullanım süresi ve miktarının farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Literatürde, sigaranın sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli hastalarda olan etkilerinin kıyaslanarak incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu açıdan nikotinin, diş etinin kan akışında meydana getirdiği artışın lokal vazokonstriktif etkilerini tolere edip edemediği araştırılması gereken bir konudur. Çalışmamıza dahil edilen bireylerin genç erişkinlerden oluşmasından ötürü kanlanma ve doku beslenmesinin yeterli olması beklendiğinden, sigaranın doz-yanıt mekanizması da

dikkate alındığında^{263,274,382}, sigara içen hastalarda inflamasyonun klinik bulguları baskılansa da tanıyı maskeleyeceği düşünülmüştür. Sigara içen hastalardan oluşan test grubunda sondalamada kanamanın ($75,4871 \pm 12,12337$), sigara içmeyen hastalardan oluşan kontrol grubundan ($65,3328 \pm 20,00334$) yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Benzer şekilde GI skorları da, sigara içenlerde ($1,7348 \pm 0,18490$), içmeyenlere ($1,5541 \pm 0,41347$) kıyasla anlamlı ölçüde daha yüksektir ($p < 0,05$). Sigara içenlerde şiddetli gingivitis tablosu görüldüğünü bildirilen başka çalışmalar da mevcuttur^{21,22,382-384}.

Deneyisel gingivitis çalışmalarında^{20,246,249,386}, sigara içen hastalarda inflamasyonun klinik bulgularının sigara içmeyenler kadar belirgin olmadığı görülmüştür. Feldman³⁸⁰ ise, sigara içen ve içmeyen hastalar arasında bir fark görmediğini bildirmiştir. Bergström^{17,249}, sigara içenlerde PI yüksek olmasına rağmen SK skorlarının düşük olduğunu görürken, Grossi²⁵⁷ ve van der Weijden²⁷⁵, SK skorlarında sigara içenler ve içmeyenler arasında anlamlı bir fark saptamamıştır. PI skorlarında sigara içenlerde artış tespit eden diğer araştırmacılardan^{247,265-269,377,387} MacGregor³⁸⁷ ve Preber³⁷⁷ bu durumu, sigara içenlerin daha kısa süreli diş fırçaladığına bağlamaktadır. Çeşitli yazarlar^{42,379,389-391}, sigara içenlerde düşük ağız hijyeni görüldüğünü bildirmektedir. Çalışmamızda sigara içenlerde PI düzeyinin ($1,7627 \pm 0,65570$), içmeyenlerden ($1,1963 \pm 0,50416$) anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu görülmüş ($p < 0,05$) fakat günlük diş fırçalama alışkanlıklarında iki grup arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Machuca ve ark.³⁹², genç erişkinlerde sigara içen ve içmeyenler arasında fırçalama alışkanlıklarında bir farklılık görülmemesine rağmen sigara içenlerde yüksek olan PI skorlarını, biyofilmdeki ekolojik değişikliklerinden kaynaklanabileceği yönünde yorumlamaktadırlar. Çalışmamızda arayüz bakımı yapan hastaların anlamlı ölçüde büyük kısmının (%95,2) sigara içmeyen hastalardan oluştuğu görülmüştür ($p < 0,05$). Literatürde düşük arayüz bakımının sigara ile ilişkilendirildiği görülmektedir³⁹³. Sigaranın ağız bakım statüsüne olan etkisini Oral Hijyen İndeksi (OHI) ve GI ile değerlendiren bir çalışmada³⁹⁷, sigara içenlerde her iki parametrenin de yüksek olduğu görülmüştür. Bu netice, çalışmamızda elde edilen bulgularla desteklemektedir.

Papapanou²⁶⁶, plak değişkeni sabit tutulunca, sigara içenlerde 3 kat daha şiddetli periodontitis görüldüğünü rapor etmiştir. Yapılan çalışmalar^{249,270,275,392}, sondalanabilir

cep derinliğinin sigara içenlerde arttığını ortaya koymaktadır. Bu durum, periodontal hastalık şiddetinin sigara içenlerde arttığını işaret etmektedir. Çalışmamızda SCD değerleri sigara içenlerde ($1,3812 \pm 0,20147$) içmeyenlere ($1,3524 \pm 0,17610$) kıyasla daha yüksek olsa da, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Fakat çalışmamıza dahil edilen tüm hastaların, gingivitis tanısı konan hastalar olduğu dikkate alınmalıdır. Gingivitiste SCD değerlerinin yüksek olmaması beklendiğinden tanı aralığı kısıtlıdır ve istatistiksel anlamlılığa matematiksel olarak uygun olmayacağı düşünülmektedir. Bundan bağımsız olarak, SCD değeri her zaman ataşman kaybıyla ilişkili olarak değişik göstermez. Yaşlanma ile, abraziv fırçalama sonucu veya periodontal tedavi sonrası görülebilen diş eti çekilmesi, SCD değerlerinde azalma ile gözlemlenir. Bu durumda DKK ve SCD parametrelerinin birlikte değerlendirilmesi, bir başka deyişle klinik ataşman düzeylerinin incelenmesi daha doğru olacaktır³⁹⁶. KAD, değerlerdeki olası bir artışın, periodontal lezyonun şiddetlendiğinin ve doku yıkımının arttığının habercisi olmasından ötürü önemlidir. SCD ve KAD değerlerinin, SK, GI ve PI skorları ile birlikte yorumlanması güvenilirliği artırır. Sigaranın KAD değerleri üzerindeki etkisinde SCD ile benzer durum geçerlidir. Periodontitiste bu konuda yapılan çalışmalarda, yüksek SCD ve KAD değerleri sigara ile ilişkilendirilmektedir^{269,274,394}. Çalışmamızda, KAD sigara içenlerde ($1,3705 \pm 0,64156$) içmeyenlere ($1,3421 \pm 0,54961$) kıyasla daha yüksek olsa da, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Bu durum, daha önce de değinildiği üzere, çalışmanın yürütüldüğü hasta grubunun gingivitis tanısı alan hastalardan oluşmasına bağlanmaktadır.

Çalışmamızın test ve kontrol grubu oluşturulurken demografik verilerin benzer dağılım göstermesine dikkat edilmiştir ancak test grubunda erkekler (%74,4) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde kadınlardan (%25,6) fazladır ($p < 0,05$). Bunun sebebi, kadınlardaki sigara içme sıklığının tüm yaş gruplarında erkeklerden daha az olmasıdır³⁹⁹. Yaş ve BKİ, iki grupta da homojen dağılmıştır. Eğitim ve gelir düzeyleri de iki grupta benzer dağılım göstermiştir. Bu verilerin sigara içen ve içmeyen bireyler arasında benzer olması, klinik indeks ve biyokimyasal parametrelerin, farklı faktörlerin etkisinde kalmadan incelenmesini sağlamaktadır. Literatür tarandığında, sosyoekonomik faktörlerin ağız bakım alışkanlıkları ve periodontal dokular üzerindeki etkisi açıkça görülmektedir⁴⁰⁰⁻⁴⁰². Bundan ötürü, diğer faktörlerin her iki grupta da benzer dağılım göstermesi, sigaranın etkilerini tek başına görebilmek açısından önemlidir.

Sigaranın periodontal dokular ve periodontal hastalıklar üzerindeki etkilerinin sigaranın kullanım süresi ve miktarına bağlı olarak değiştiği yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur^{193,257,282,403}. Martinez-Canut ve ark.²⁷⁴, ataşman kaybı şiddetinin günde 1 adet sigara tüketilmesiyle %0,5 oranında, günde 10-20 adet sigara ile %5-%10'a kadar arttığını bildirmiştir. Çalışmamızda, sigaranın kullanım süresi ve miktarıyla ilişkili test grubunda klinik ve biyokimyasal parametrelerde anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Bir başka deyişle, sigara kullanım süresi ve miktarındaki değişimlerle, klinik ve biyokimyasal parametreler korele seyretmemektedir. Bu durumun, sigara içen hastaların çalışmaya dahil edilmesinde kriter alınan günlük sigara tüketimi alt sınırının seçiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu durum, çalışmamızın kısıtlılığıdır. Sigaranın periodontal dokular üzerindeki doz-yanıt ilişkisinin, örneklem sayısı daha fazla olan, test grubunun günlük 20 ve üzeri sigara tüketen hastalardan seçildiği²⁹³ ve farklı inflamasyon düzeyindeki bireylerin değerlendirildiği çalışmalarla araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Sigaranın nötrofil fonksiyonları üzerinde negatif etkileri olduğu bilinmektedir. Sigara, bozulan nötrofil fonksiyonlarının yanı sıra⁴⁰⁴⁻⁴⁰⁶, artan inflamatuvar sitokin ve proteolitik enzim seviyelerinden de sorumlu tutulmaktadır^{362,407}. Çalışmamızda bu enzimlerden myeloperoksidaz, beta-glukuronidaz ve nötrofil elastazı inceledik. Lamster ve ark.¹⁶¹, periodontal hastalığı teşhis edebilme potansiyeli açısından çeşitli enzimler test etmiş ve en iyi neticeleri nötrofil elastaz ve beta-glukuronidaz enzimlerinin gösterdiğini ifade etmiştir. DOS'ta beş parametrenin incelendiği bir çalışmada ise, MPO'nun ileri periodontal hastalık için potansiyel bir gösterge olabileceği öne sürülmüştür¹⁶².

Çalışmamızın dizaynı, maksiller ve mandibular dişlerden alınan DOS örneklerinin hem ayrı ayrı hem de birlikte incelenmesini kapsamaktadır. Çalışmamızda, karşıt çene dişlerinin enzim değerlerinde farklılıklar tespit edilmiştir. Tüm hastalar incelendiğinde, mandibular dişlerde klinik parametreler ve enzim düzeylerinde maksiller dişlere kıyasla yüksek değerler saptanmıştır. Literatür tarandığında kısıtlı bir arşivle karşılaşılsa da, genel olarak maksiller ve mandibular dişlerin periodontal durumlarının farklılık gösterdiği rapor edilmiştir^{259,408-413}. Literatürde, mandibular dişlerin periodontal desteğinin maksiller dişlerden zayıf olduğuna işaret edilmektedir. Bu durum çeşitli faktörlere bağlanmaktadır. Alveol kemiği miktarı, diş eti biyotipi ve

plak temizliği bu faktörler arasında sayılmaktadır. Bjørnaas ve ark.⁴⁰⁸, mandibular dişlerin alveol kemiği yüksekliğinin maksiller dişlerden anlamlı ölçüde düşük olduğunu gözlemlemişlerdir ve ilerleyen yıllarda yürütülen çalışmalar^{409,410} da bu bulguları desteklemektedir. Bilgin ve ark.⁴¹² yaptıkları çalışmada, kalın biyotip görülen dişlere en az mandibular kanin bölgesinde, en çok maksiller keserlerde rastlamışlardır. Mevcut çalışmalar da, bu bulguları desteklemekte olup, diş eti kalınlığının maksillada mandibuladan daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır^{414,415}. Kalın diş eti biyotipi, ilave kan desteği ve dolayısıyla daha güçlü bir bağışık yanıt sağlar. Al-Jasser ve ark.⁴¹³ yürüttükleri çalışmada, mandibular dişlerin SCD değerlerinde maksiller dişlere kıyasla anlamlı artış gözlemlemişlerdir. Lindhe²⁵⁹, mandibular dişlerde etkin plak temizliğinin maksillaya göre daha düşük olduğunu ifade etmektedir. Başka bir çalışmada⁴¹⁶, sol dişlerde sağ dişlere kıyasla anlamlı ölçüde daha fazla plak birikimi görülmüştür. Bu durum, toplumun çoğunluğunun baskın olarak sağ elini kullanmasına bağlanmıştır. Çalışmamızda DOS toplanan mandibular kanin dişlerinin sol tarafta yer alması açısından benzerlik görülmektedir. Sırayla ifade edilen faktörlerin tamamı, periodontal hastalığa olan yatkınlığı arttırabilmektedir²⁵⁹. Çalışmamızda elde edilen bulgular, bahsi geçen çalışmaları desteklemektedir. Çalışmamızda, enzim düzeylerinin mandibulada maksillaya kıyasla daha yüksek seyrettiği görülmüştür. Mandibuladaki yüksek enzim miktarı, yeterince etkin plak temizliği yapılamamasından ötürü artan mikrobiyal yük karşısında bağışık yanıtın ve dolayısıyla nötrofilik aktivitenin artmasından ya da periodontal doku desteğinin alt çenede üst çeneye kıyasla daha zayıf olmasından ötürü inflamasyona olan yatkınlığın artmasından kaynaklanıyor olabilir.

Sigaranın periodontal dokular üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarda tercih edilen çalışma dizaynı, yaygın olarak, sigara içen hastalardan oluşan test grubu ve içmeyen hastalardan oluşan kontrol grubu olmak üzere iki grubu kapsamaktadır^{226,255,387,406}. Çalışmamız da benzer şekilde tasarlanmıştır. Sigara bağımsız değişken tutulmuş ve tüm hastalar gingivitis hastalarından oluşturulmuştur. Literatürde, sağlıklı periodontal dokularda olması beklenen DOS nötrofil enzimi düzeyleri için genel kabul görmüş biyokimyasal bir referans aralığına rastlanmamıştır. Çalışmamızda sağlıklı periodonsiyumdaki enzim değerlerini temsil edecek bir hasta grubu oluşturulmaması çalışmamızın kısıtlılığıdır. Bunun örneği, Rai ve ark.⁴¹⁷ tarafından yürütülen çalışmada görülmektedir. Çalışma toplamda dört gruptan oluşmakta olup, sigara içen ve içmeyen sağlıklı periodonsiyuma sahip hastalar ile sigara içen ve içmeyen

periodontitis hastalarından oluşmaktadır. Bu çalışma dizaynında, sigaranın sağlıklı dokulardaki ve inflamasyondaki etkileri daha belirgin görülebilmektedir. Çalışmamızın kapsamına ilave olarak sağlıklı periodonsiyuma sahip hasta grubunun da dahil edildiği yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Myeloperoksidaz, nötrofillerin uyarılmasını takiben ekstrasellüler bölgeye salınan antimikrobiyal bir enzimdir³⁶⁸. MPO, MMP aktivasyonu ve oksidatif yollarla bağ dokusu hasarına yol açabilmektedir¹⁷¹. Periodontal hastalıkta DOS'taki MPO düzeylerinin arttığı bilinmektedir⁴¹⁸⁻⁴²⁰. Cao ve Smith⁴¹⁸, sağlıklı dokulara kıyasla DOS'taki MPO düzeylerinin gingivitiste 1,5 kat, periodontitiste 3 kat arttığını rapor etmiştir. Araştırmacılar^{178,179,421}, periodontal tedaviyi takiben DOS MPO düzeylerinde düşüş gözlemlemiştir. Bu bulgular, DOS MPO konsantrasyonunun diş eti inflamasyonu ile direkt ilişkili olduğunu işaret etmektedir.

Sigaranın periodontal hastalığa olan yatkınlığı arttırdığı ve inflamasyonun destrüktif bulgularını şiddetlendirdiği bilinmektedir^{269,292,333,422}. Sigarayı kronik obstrüktif akciğer hastalığı ile ilişkilendiren ve şiddetli havayolu semptomları görülmeyen hastalarda yürütülen bir çalışmada⁴²³, serum MPO belirtecini, sistemik inflamasyonun erken göstergesi olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir. Bu çalışmada, 6 yıllık takip sonucunda sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla serum MPO düzeylerinin anlamlı ölçüde yüksek olduğu görülmüştür. Rai ve ark.⁴¹⁷, sigara içenlerde DOS MPO düzeyini, içmeyenlere kıyasla anlamlı ölçüde yüksek bulmuşlardır. Çalışmamızda DOS MPO konsantrasyonu sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla anlamlı düzeyde yüksektir ($p<0,05$) ve bulgular literatürdeki diğer çalışmaları desteklenmektedir. Özçaka ve ark.³³⁴, serum MPO düzeylerinin sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla anlamlı ölçüde yüksek olduğunu rapor etmiştir. Yüksek serum MPO düzeyi, nötrofillerin spesifik granüllerinin degranülasyonunda artışı işaret etmektedir ve hem sistemik hem de lokal inflamasyon için artan riskin bir göstergesi olabileceği belirtilmektedir. Buna rağmen, literatürdeki bazı çalışmalarda^{174,334,352,424} olduğu gibi yürüttüğümüz çalışmamızda, klinik veriler ile DOS MPO düzeyleri arasında yeterli ilişki tespit edilmemiştir. Buna karşın çeşitli araştırmacılar, DOS MPO düzeyleri ile klinik ölçümler arasında pozitif korelasyon tespit etmiştir^{178-180,425-427}. Fakat bu çalışmalar periodontitis hastalarında gerçekleştirilmiştir. İnflamasyon düzeyinin nispeten düşük olduğu olgularda, daha düşük miktarda DOS görüldüğü ve sigara

içenlerde istatistiksel olarak daha az miktarda DOS toplandığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir^{24,249,251}. Benzer şekilde çalışmamızda da bu sebeplerden ötürü istatistiksel değerlendirme sonucunda eksik korelasyon görülmüş olabileceği düşünülmektedir¹⁷⁴. Hastaların sigara konusundaki öz bildirimlerinin de zaman zaman güvenilmesi zor olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır⁴²⁴. Bu yüzden, sigara içme durumunun serum ve/veya tükürük kotinin analizi ile doğrulanması daha güvenilir olacaktır. Bu değerlendirmenin yapılmamış olması çalışmamızın kısıtlılığdır. Yapılacak çalışmalarda test grubunun, öz bildirimlerden ziyade kotinin analizi esas alınarak oluşturulması bulguların güvenilirliğini arttıracaktır.

Beta-glukuronidaz, nötrofillerin birincil granüllerinden salınan, ekstrasellüler matriksin kolajen olmayan bileşenlerinin yıkımında rol alan bir enzimdir. Proteoglikanların katabolizmasında yer alır. Literatürde, BGD ile periodontal hastalık arasındaki ilişki açıkça gösterilmiştir. DOS'ta ilk olarak 1970 yılında Bang ve ark.¹⁶³ tarafından yapılan çalışmada saptanmıştır. Bu çalışmada, DOS'taki BGD miktarı ile sulkustaki PMNL sayısı arasında korelasyon tespit edilmiştir. Bu sayede BGD aktivitesi ile periodontal hastalık arasında pozitif ilişki olduğu kabul edilmiştir. Periodontal hastalığın teşhisinde diagnostik kriter olarak BGD ölçümünün alt yapısı birden çok kanıta dayanmaktadır^{156,164}. Harper ve ark.¹⁶⁵, hastalık şiddeti ve subgingival periodontopatojenlerin sayısı arttıkça DOS'ta total BGD aktivitesinde anlamlı artış gözlemlemiştir. Layık ve ark.¹⁷¹, periodontitisli hastalarda DOS BGD düzeylerinin sağlıklı gruba göre yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu durum, artan mikrobiyal yük karşısında nötrofillerin hiperaktivitesine bağlanmaktadır. Lamster ve ark.¹⁶⁸, DOS'ta BGD düzeylerindeki artışın, aktif peridontal hastalık riskini tanımlamada yol gösterici olabileceğini ifade etmektedir. Çalışmamızda, sigara içenlerde DOS BGD düzeyleri içmeyenlere kıyasla anlamlı düzeyde yüksektir ($p<0,05$) ve bulgular literatürdeki çalışmalarla desteklenmektedir^{167,352,428,429}. Bulgular, DOS BGD düzeylerinin çoğu klinik parametreyle pozitif korelasyon gösterdiğini işaret ederken, tüm bulgularda istikrarlı bir korelasyon görülmemektedir. Literatürde bu değişkenler arasında yetersiz korelasyon görülen çalışmaların^{168,171,430,431} yanı sıra, klinik ölçümlerle DOS'ta^{352,432-434} ve tükürükte⁴³⁵ BGD düzeyleri arasında keskin korelasyon görülen çalışmalar da mevcuttur. Çalışmamızda, verilerin sunum tekniği, DOS hacminin hesaplanması esnasında tercih edilen yöntem ve inflamasyon koşulları klinik ölçümleri ve laboratuvar sonuçlarını etkilemiş olabilir. Bunların yanı sıra, çalışmaya dahil edilen hastaların

gingivitis, bir başka deyişle; henüz periodontal doku yıkımının ve ataşman kaybını içeren şiddetli inflamatuvar koşulların görülmeyeceği olgular olduğu dikkate alınmalıdır. Bu yüzden, elde edilen DOS hacminin, klinik parametreler ile anlamlı korelasyon gösterebilmek için yeterli olmayabileceği düşünülmektedir.

Nötrofil elastaz, proinflamatuvar MMP'lerin aktivasyonuna sebep olan bir nötrofil enzimidir. Özellikle gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel rol oynar ve konak savunma mekanizmasında önemli yere sahiptir^{436,437}. Periodontal hastalığın erken safhalarında, kolajen olmayan protein kaplı kolajen fibrillerin degradasyonundan sorumludur⁴³⁸. Literatürde, NE miktarı ve aktivitesi ile inflamasyon ve ataşman kaybı arasında pozitif bir ilişki olduğu ortaya konmuştur^{148,174-176}. Gustafsson ve ark.¹⁴⁸ tarafından yapılan çalışmada DOS'ta NE periodontitis hastalarında gingivitis hastalarından daha yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Giannopoulou ve ark.⁴³⁹, deneysel gingivitis çalışmasında NE düzeylerinde artış rapor etmiştir. Eley ve Cox¹⁷⁴, periodontal tedavi ile DOS NE seviyelerinde düşüş gözlemlemiştir. Özçaka³³⁴ ve Yamalık⁴²⁶, sigara ile NE arasında bir ilişki tespit etmiştir. Çalışmamızda sigara içen grupta NE düzeyleri anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) ve bulgular literatürü desteklemektedir. Buna karşın sağlıklı genç erişkinlerde yürütülen bir çalışmada, Persson ve Bergström²⁴, sigara içenlerde DOS NE düzeylerinde anlamlı bir yükseklik tespit etmemiştir. Bu durum, inflamasyon alanına doğru yola çıkan nötrofillerin NE salınımını periodontal dokulara varmadan gerçekleştirmiş olabileceği yönünde yorumlanmıştır. Pauletto ve ark.⁴⁴⁰, sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla daha düşük DOS NE seviyeleri gözlemlemiştir. Literatürdeki farklı bulgular inflamasyon derecelerinin farklı olmasından ya da sigara konusundaki öz bildirimlerin güvenilirliğinin şüpheli olmasından kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda DOS NE düzeyleri, çoğu klinik parametreyle pozitif korelasyon göstermekte olsa da, tüm bulgulara istikrarlı bir korelasyon görülmemektedir. Palcanis¹⁷⁷ ve Huynh³⁶⁰, DOS NE seviyeleriyle klinik parametreler arasında pozitif korelasyon bildirirken, Eley¹⁷⁴ ve Yamalık⁴²⁶, anlamlı bir korelasyon gözlenmediğini rapor etmiştir.

Çalışmamızda incelenen DOS MPO, BGD ve NE enzimi düzeylerinin birbiriyle olan ilişkileri araştırıldığında, MPO enziminin diğer iki enzimle anlamlı korelasyon göstermediği, BGD ve NE enzimlerinin pozitif korelasyon gösterdiği gözlenmiştir. Özçaka³³⁴ ve Yamalık⁴²⁶, MPO ve NE enzimleri arasında pozitif korelasyon tespit

ederken, DOS'taki enzimlerin birbiriyle olan korelasyonlarını analiz etmeyen çalışmalar da mevcuttur^{24,365}.

Konağın bağışık yanıtının sonucu olarak salınan enzimler, proinflamatuvar sitokinler ve araşidonik asit metabolitleri, periodontal destek dokuların yıkımıyla ilişkili görülmektedir. Konak ve mikroorganizmalar arasındaki homeostazisin konağın aleyhine kayması sonucu inflamatuvar yanıtın önemli bir parçası olan enzimlerin aktivitelerinde artış görülmesi, hastalığın başlangıç ve progresyonunun anlaşılmasında enzimlerin önemli bir belirteç olabileceğine işaret etmektedir. Bu bağlamda, gelecekte klinik kullanıma uygun bir teknik geliştirilmesi durumunda, DOS bileşenlerinin biyokimyasal profilinin periodontal hastalık paterninin izlenmesinde faydalı olabileceği düşünülmektedir.

İnflamasyonun çözünmesini geciktiren ya da engelleyen faktörler, geri dönüşümsüz doku yıkımını kaçınılmaz hale getirmektedir. Sigara, inflamatuvar yanıt üzerindeki konak karşıtı etkilerinden ötürü, genel sağlık için olduğu kadar periodontal hastalık için de bir risk faktörü olarak tanımlanmaktadır. Çalışmamızda, periodontal inflamasyonla ilişkilendirilen MPO, BGD ve NE enzimlerinin DOS düzeyleri, sigara içen hastalarda içmeyenlere kıyasla beklendiği gibi anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Bulgular, sigaranın periodontal hastalık için bir risk faktörü olduğunu doğrulamakta ve çalışmamızın zeminini oluşturan hipotezlerin ilkinin desteklenmektedir. Gingivitisin klinik belirtileri (klinik ölçüm verileri) ile DOS'taki nötrofil enzimi seviyeleri arasındaki korelasyonların tamamı anlamlılık göstermese de anlamlılık gösteren korelasyonların pozitif yönde seyretmesi ise, çalışmamızın ikinci hipotezini kısmen desteklemektedir. DOS'un enzimatik profilinin, çalışmamızın kısıtlamalarının iyileştirildiği yeni çalışmalarla incelenmesine ihtiyaç vardır. Örneklem kapsamının geliştirilmesi, klinik ve biyokimyasal değerlendirmelerin mikrobiyolojik analizle desteklenmesi ve sigara içen hastaların serum ya da tükürükte kotinin analizine göre belirlenmesi bulguların güvenilirliğini arttıracaktır.

6. SONUÇLAR

Tanısı 2017 Periodontal ve Peri-İmplanter Hastalık ve Durumlar Sınıflaması'na göre konmuş dental plak biyofilmi kaynaklı gingivitis hastalarının klinik ölçümlerini ve DOS'taki myeloperoksidaz, nötrofil elastaz ve beta-glukuronidaz enzimi seviyelerinin sigara ile olan ilişkisini değerlendirdiğimiz çalışmamızda, şu sonuçlar ortaya çıkmıştır:

1. Sigara içen grupta ağız bakım alışkanlıkları ve klinik inflamasyon bulguları kontrol grubuna kıyasla daha olumsuz seyretmiştir.
2. Sigara tüketiminin ağız bakım alışkanlıklarını olumsuz etkilediği düşünülebilir.
3. Gingivitisli bireylerde diş eti oluğu sıvısındaki myeloperoksidaz, beta-glukuronidaz ve nötrofil elastaz seviyeleri, sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla daha yüksek ölçülmüştür. Biyokimyasal parametrelerin yanı sıra, PI, GI ve SK skorlarının da sigara içenlerde anlamlı ölçüde yüksek olması, MPO, BGD ve NE enzimlerinin, periodontal hastalığın erken evrelerinde hastalığın teşhisi açısından birer biyobelirteç olarak kullanıma aday olabileceğine işaret etmektedir.
4. Sigara içenlerde diş eti inflamasyonunun daha şiddetli seyrettiği, biyokimyasal ve klinik parametrelerle desteklenmektedir.
5. Nötrofil elastaz seviyeleri, klinik parametreler ile pozitif korelasyon göstermekte olup, diş etinin inflamatuvar yanıtı ile ilişkili bulunmuştur. Bu açıdan NE, diğer enzimler ile kıyaslandığında periodontal hastalığın erken evrelerinde diagnostik olarak daha güvenilir bir belirteçtir.
6. Beta-glukuronidaz ile nötrofil elastaz enzimleri arasında pozitif ilişki saptanmıştır.
7. Alt dişlerde daha yüksek enzim değerlerinin görülmesi, üst dişlerin periodontal doku desteğinin daha iyi olması ve daha iyi bir ağız bakım rutinine tabi tutulmaları sayesinde inflamasyonun daha hafif seyretmesine ve sigaranın alt bölgedeki lokal etkilerine bağlanabilir.
8. Sigara kullanımı genç yaştan itibaren periodontal hastalık için oldukça önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilmelidir.

Sonuç olarak, çalışmamızda sigara içen hastalarda, klinik inflamasyon bulgularının ve diş eti oluğu sıvısında myeloperoksidaz, beta-glukuronidaz ve nötrofil elastaz düzeylerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sigaranın, inflamasyonun klinik

ve biyokimyasal bulguları üzerinde etkisinin olduğu gör÷lmektedir. Ancak, artan periodontal inflamasyon şiddeti ile sigara arasında direkt bir ilişki olduğunu ifade edebilmek için bulguların daha kapsamlı araştırmalarla desteklenmesi gerekmektedir.



KAYNAKLAR

1. Marchesan JT, Girnary MS, Moss K, Monaghan ET, Egnatz GJ, Jiao Y, Zhang S, Beck J, Swanson KV. Role of inflammasomes in the pathogenesis of periodontal disease and therapeutics. *Periodontol* 2000. 2020 Feb;82(1):93-114. doi: 10.1111/prd.12269. PMID: 31850638; PMCID: PMC6927484.
2. Page RC. Gingivitis. *J Clin Periodontol*. 1986 May;13(5):345-59. doi: 10.1111/j.1600-051x.1986.tb01471.x. PMID: 3522644.
3. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976 Mar;34(3):235-49. PMID: 765622.
4. Hajishengallis G, Korostoff JM. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. *Periodontol* 2000. 2017 Oct;75(1):116-151. doi: 10.1111/prd.12181. PMID: 28758305; PMCID: PMC5539911.
5. Hajishengallis E, Hajishengallis G. Neutrophil homeostasis and periodontal health in children and adults. *J Dent Res*. 2014 Mar;93(3):231-7. doi: 10.1177/0022034513507956. Epub 2013 Oct 4. PMID: 24097856; PMCID: PMC3929973.
6. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol* 2000. 1997 Jun;14:216-48. doi: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00199.x. PMID: 9567973.
7. Chapple ILC, Mealey BL, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S74-S84. doi: 10.1002/JPER.17-0719. PMID: 29926944.
8. Nakashima K, Giannopoulou C, Andersen E, Roehrich N, Brochut P, Dubrez B, Cimasoni G. A longitudinal study of various crevicular fluid components as markers of periodontal disease activity. *J Clin Periodontol*. 1996 Sep;23(9):832-8. doi: 10.1111/j.1600-051x.1996.tb00620.x. PMID: 8891934.

9. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis. 2. New clinical methods of diagnosis. *Br Dent J*. 1998 Jan 24;184(2):71-4. doi: 10.1038/sj.bdj.4809548. PMID: 9489214.
10. Embery G, Waddington R. Gingival crevicular fluid: biomarkers of periodontal tissue activity. *Adv Dent Res*. 1994 Jul;8(2):329-36. doi: 10.1177/08959374940080022901. PMID: 7865094.
11. Koss MA, Castro CE, et al. Enzymatic Profile of Gingival Crevicular Fluid in Association With Periodontal Status. *Laboratory Medicine*. 2009. 40(5):277-280. <https://doi.org/10.1309/LMCNUQI8ULCUK2BK>. PMID: 19212473
12. Ryder MI. The influence of smoking on host responses in periodontal infections. *Periodontol 2000*. 2007;43:267-77. doi: 10.1111/j.1600-0757.2006.00163.x. PMID: 17214844.
13. Scott DA, Singer DL. Suppression of overt gingival inflammation in tobacco smokers - clinical and mechanistic considerations. *Int J Dent Hyg*. 2004 Aug;2(3):104-10. doi: 10.1111/j.1601-5037.2004.00079.x. PMID: 16451473.
14. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol*. 1999 Dec;4(1):7-19. doi: 10.1902/annals.1999.4.1.7. PMID: 10863371.
15. Mühlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta*. 1971 Oct;15(2):107-13. PMID: 5315729.
16. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*. 1992 Apr;63(4 Suppl):322-31. doi: 10.1902/jop.1992.63.4s.322. PMID: 1573546.
17. Bergström J, Boström L. Tobacco smoking and periodontal hemorrhagic responsiveness. *J Clin Periodontol*. 2001 Jul;28(7):680-5. doi: 10.1034/j.1600-051x.2001.028007680.x. PMID: 11422590.
18. Nair P, Sutherland G, Palmer RM, Wilson RF, Scott DA. Gingival bleeding on probing increases after quitting smoking. *J Clin Periodontol*. 2003 May;30(5):435-7. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.20039.x. PMID: 12716336.
19. Peruzzo DC, Gimenes JH, Taiete T, Casarin RC, Feres M, Sallum EA, Casati MZ, Kantovitz KR, Nociti FH Jr. Impact of smoking on experimental gingivitis. *A*

- clinical, microbiological and immunological prospective study. *J Periodontal Res.* 2016 Dec;51(6):800-811. doi: 10.1111/jre.12363. Epub 2016 Mar 3. PMID: 26936228.
20. Preber H, Bergström J. Occurrence of gingival bleeding in smoker and non-smoker patients. *Acta Odontol Scand.* 1985 Oct;43(5):315-20. doi: 10.3109/00016358509046515. PMID: 3878653.
 21. Müller HP, Stadermann S, Heinecke A. Longitudinal association between plaque and gingival bleeding in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol.* 2002 Apr;29(4):287-94. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.290403.x. PMID: 11966925.
 22. Müller HP, Heinecke A. The influence of gingival dimensions on bleeding upon probing in young adults with plaque-induced gingivitis. *Clin Oral Investig.* 2002 Jun;6(2):69-74. doi: 10.1007/s00784-001-0141-4. PMID: 12166716.
 23. Baab DA, Oberg PA. The effect of cigarette smoking on gingival blood flow in humans. *J Clin Periodontol.* 1987 Aug;14(7):418-24. doi: 10.1111/j.1600-051x.1987.tb01547.x. PMID: 2957396.
 24. Persson L, Bergström J, Ito H, Gustafsson A. Tobacco smoking and neutrophil activity in patients with periodontal disease. *J Periodontol.* 2001 Jan;72(1):90-5. doi: 10.1902/jop.2001.72.1.90. PMID: 11210079.
 25. Hassell TM. Tissues and cells of the periodontium. *Periodontol 2000.* 1993 Oct;3:9-38. doi: 10.1111/j.1600-0757.1993.tb00230.x. PMID: 9673156.
 26. Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000.* 2006;40:29-49. doi: 10.1111/j.1600-0757.2005.00140.x. PMID: 16398684.
 27. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol 2000.* 2000 Oct;24:28-55. doi: 10.1034/j.1600-0757.2000.2240103.x. PMID: 11276872.
 28. World Health Organization. Constitution of the World Health Organization. Principles. <https://www.who.int/about/who-we-are/constitution>. Accessed January 24, 2021.

29. Lang, NP, Bartold, PM, 2018. Periodontal health. *Journal of Clinical Periodontology* 45, S9–S16. doi: 10.1002/JPER.16-0517. PMID: 29926938.
30. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature reviews. Microbiology*. 2010;8:481–490. doi: 10.1038/nrmicro2337. PMID: 20514045.
31. Teles FR, Teles RP, Uzel NG, Song XQ, Torresyap G, Socransky SS, Haffajee AD. Early microbial succession in redeveloping dental biofilms in periodontal health and disease. *J Periodontal Res*. 2012 Feb;47(1):95-104. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01409.x. Epub 2011 Sep 5. PMID: 21895662; PMCID: PMC3253172.
32. Haffajee SS, Cugini AD, Smith C, Jr K, Microbial RL. Microbial complexes in subgingival plaque. 1998;134-144. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x. PMID: 9495612.
33. Greene JC. Oral hygiene and periodontal disease. *Am J Public Health Nations Health*. 1963 Jun;53(6):913-22. doi: 10.2105/ajph.53.6.913. PMID: 13950158; PMCID: PMC1254177.
34. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis In Man. *J Periodontol*. 1965 May-Jun;36:177-87. doi: 10.1902/jop.1965.36.3.177. PMID: 14296927.
35. Lang NP, Schätzle MA, Loe H. Gingivitis as a risk factor in periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2009 Jul;36 Suppl 10:3-8. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01415.x. PMID: 19432625.
36. Seymour GJ, Taylor JJ. Shouts and whispers : an introduction to immunoregulation in periodontal disease. 2004;35(3):9-13. doi: 10.1111/j.0906-6713.2004.003555.x. PMID: 15107054.
37. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke T E. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000 2014; 64: 57–80. doi: 10.1111/prd.12002. PMID: 24320956; PMCID: PMC4500791.
38. Hajishengallis G, Korostoff JM. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. *Periodontol 2000*. 2017 Oct;75(1):116-151. doi: 10.1111/prd.12181. PMID: 28758305; PMCID: PMC5539911.

39. Wiebe CB, Putnins EE. The periodontal disease classification system of the American Academy of Periodontology--an update. *J Can Dent Assoc.* 2000 Dec;66(11):594-7. PMID: 11253351.
40. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999 Dec;4(1):1-6. doi: 10.1902/annals.1999.4.1.1. PMID: 10863370.
41. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol.* 2018. 45;1–8. doi: 10.1111/jcpe.12935. PMID: 29926489.
42. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975 Dec;25(4):229-35. PMID: 1058834.
43. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Periodontol.* 2018 Jun;89 Suppl 1:S46-S73. doi: 10.1002/JPER.17-0576. PMID: 29926936.
44. Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Brägger U, Zwahlen M, Lang NP. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol.* 2008 Aug;35(8):685-95. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01245.x. Epub 2008 Jul 23. PMID: 18549447.
45. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque-induced gingival conditions. *J Periodontol.* 2018 Jun;89 Suppl 1:S17-S27. doi: 10.1002/JPER.17-0095. PMID: 29926958.
46. Loe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol.* 1986;13:431–445. doi: 10.1111/j.1600-051x.1986.tb01487.x. PMID: 3487557.
47. Ismail AI, Morrison EC, Burt BA, Caffesse RG, Kavanagh MT. Natural history of periodontal disease in adults: findings from the Tecumseh Periodontal Disease Study, 1959–87. *J Dent Res.* 1990;69:430–435. doi: 10.1177/00220345900690020201. PMID: 2407756.

48. Clerehugh V, Worthington HV, Lennon MA, Chandler R. Site progression of loss of attachment over 5 years in 14- to 19-year-old adolescents. *J Clin Periodontol.* 1995;22:15–21.11. doi: 10.1111/j.1600-051x.1995.tb01766.x. PMID: 7706535.
49. Albandar JM, Kingman A, Brown LJ, Löe H. Gingival inflammation and subgingival calculus as determinants of disease progression in early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1998;25:231–237.12. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02433.x. PMID: 9543194.
50. Schätzle M, Löe H, Bürgin W, Anerud A, Boysen H, Lang NP. Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2003;30:887–901. Erratum in: *J Clin Periodontol* 2004;31:813.13. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.00414.x. Erratum in: *J Clin Periodontol.* 2004 Sep;31(9):813. PMID: 14710769.
51. Ramseier CA, Anerud A, Dulac M, et al. Natural history of periodontitis: disease progression and tooth loss over 40 years. *J Clin Periodontol.* 2017;44:1182–1191.14. doi: 10.1111/jcpe.12782. Epub 2017 Sep 22. PMID: 28733997.
52. Tanner ACR, Kent R, Jr, Kanasi E, et al. Clinical characteristics and microbiota of progressing slight chronic periodontitis in adults. *J Clin Periodontol.* 2007;34:917–930.
53. Punchard NA, Whelan CJ, Adcock I. *The Journal of Inflammation.* *J Inflamm (Lond).* 2004 Sep 27;1(1):1.
54. Wohlfeil M, Wehner J, Schacher B, Oremek GM, Sauer-Eppel H, Eickholz P. Degree of gingivitis correlates to systemic inflammation parameters. *Clin Chim Acta.* 2009;401:105–109.
55. Eberhard J, Grote K, Luchtefeld M, Heuer W, Schuett H, et al. Experimental gingivitis induced systemic inflammatory markers in young healthy individuals: a single-subject interventional study. *PLoS One.* 2013;8:e55265.
56. Trombelli L, Farina R. A review of factors influencing the incidence and severity of plaque-induced gingivitis. *Minerva Stomatol.* 2013;62:207–234.

57. Wennström JL, Tomasi C, Bertelle A, Dellasega E. Full-mouthultrasonic debridement versus quadrant scaling and root planing asan initial approach in the treatment of chronic periodontitis. *J ClinPeriodontol*. 2005;32:851–859.
58. Lang NP, Kiel RA, Anderhalden K. Clinical and microbiological effects of subgingival restorations with overhanging or clinically perfect margins. *J Clin Periodontol*. 1983;10:563–578.
59. Schätzle M, Land NP, Anerud A, Boysen H, Bürgin W, Loe H. Theinfluence of margins of restorations of the periodontal tissues over 26 years. *J Clin Periodontol*. 2001;28:57–64.
60. Mizutani S, Ekuni D, Tomofuji T, et al. Relationship between xeros-tomia and gingival condition in young adults. *J Periodontal Res*.2015;50:74–79.
61. Warnakulasuriya S, Dietrich T, Bornstein MM, et al. Oral healthrisks of tobacco use and effects of cessation. *Int Dent J*. 2010;60:7–30.
62. Chapple ILC, Genco R. Diabetes and periodontal diseases: consen-sus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis andSystemic Disease. *J Clin Periodontol*. 2013;40(S14):106–112.
63. van der Velden U, Kuzmanova D, Chapple ILC. Micronutri-tional approached to periodontal therapy. *J Clin Periodontol*.2011;38(s11):142–158.
64. Lynch MA. Ship II. Initial oral manifestations of leukemia. *JAmDent Assoc*. 1967;75:932–940.
65. Bosshardt DD, Lang NP. The junctional epithelium: from health to disease. *J Dent Res*. 2005 Jan;84(1):9-20.
66. Tatakis DN, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. I. Background review and rationale. *J Clin Periodontol*. 2004 Apr;31(4):229-38.
67. Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J*. 2009 Sep;54 Suppl 1:S2-10. doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01139.x. PMID: 19737265.
68. Zadeh HH, Nichols FC, Miyasaki KT. The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*

- in periodontitis. *Periodontol* 2000. 1999 Jun;20:239-88. doi: 10.1111/j.1600-0757.1999.tb00163.x. PMID: 10522228.
69. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002 Dec 19-26;420(6917):853-9. doi: 10.1038/nature01321. PMID: 12490958.
 70. Janeway CA Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 197–216. doi: 10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359. Epub 2001 Oct 4. PMID: 11861602.
 71. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 1997; 91: 295–298. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80412-2. PMID: 9363937.
 72. Rietschel ET, Brade H. Bacterial endotoxins. *Sci Am* 1992; 267: 54–61. doi: 10.1038/scientificamerican0892-54. PMID: 1641625.
 73. Wingrove JA, DiScipio RG, Chen Z, Potempa J, Travis J, Hugli TE. Activation of complement components C3 and C5 by a cysteine proteinase (gingipain-1) from *Porphyromonas* (Bacteroides) *gingivalis*. *J Biol Chem*. 1992 Sep 15;267(26):18902-7. PMID: 1527018.
 74. The American Academy of Periodontology. The pathogenesis of periodontal diseases. *J Periodontol* 1999; 70: 457–470.
 75. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Metzler KD, Zychlinsky A: Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu. Rev. Immunol.* 2012; 30:459–489.
 76. Tak T, Tesselaar K, Pillay J, Borghans JA, Koenderman L, Tesselaar K, Pillay J, Borghans JA, Koenderman L: What's your age again? Determination of human neutrophil halflives revisited. *J. Leukoc. Biol.* 2013; 94:595–601.
 77. Pillay J, den Braber I, Vrisekoop N, Kwast LM, de Boer RJ, Borghans JAM, et al. In vivo labeling with $^2\text{H}_2\text{O}$ reveals a human neutrophil lifespan of 5.4 days. *Blood*. 2010;116: 625–7.
 78. Bekkering S, Torensma R. Another look at the life of a neutrophil. *World J Hematol.* 2013;2:44–58.

79. Summers C, Rankin SM, Condliffe AM, Singh N, Peters AM, Chilvers ER. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol.* 2010 Aug;31(8):318-24. doi: 10.1016/j.it.2010.05.006. PMID: 20620114; PMCID: PMC2930213.
80. von Vietinghoff S, Ley K: Homeostatic regulation of blood neutrophil counts. *J. Immunol.* 2008; 181:5183–5188.
81. Klausen P, Bjerregaard MD, Borregaard N, Cowland JB. End-stage differentiation of neutrophil granulocytes in vivo is accompanied by up-regulation of p27kip1 and down-regulation of CDK2, CDK4, and CDK6. *J Leukoc Biol.* 2004 Mar;75(3):569-78. doi: 10.1189/jlb.1003474. Epub 2003 Dec 23. PMID: 14694185.
82. Mora-Jensen H, Jendholm J, Fossum A, Porse B, Borregaard N, Theilgaard-Mönch K. Technical advance: immunophenotypical characterization of human neutrophil differentiation. *J Leukoc Biol.* 2011 Sep;90(3):629-34. doi: 10.1189/jlb.0311123
83. Bainton DF, Ulliyot JL, Farquhar MG. The development of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes in human bone marrow. *J Exp Med.* 1971 Oct 1;134(4):907-34. doi: 10.1084/jem.134.4.907. PMID: 4106490; PMCID: PMC2138991.
84. Dancey JT, Deubelbeiss KA, Harker LA, Finch CA. Neutrophil kinetics in man. *J Clin Invest.* 1976 Sep;58(3):705-15. doi: 10.1172/JCI108517. PMID: 956397; PMCID: PMC333229.
85. Cartwright GE, Athens JW, Wintrobe MM. The kinetics of granulopoiesis in normal man. *Blood* 1964;24:780–803.
86. Cowland JB, Borregaard N. Granulopoiesis and granules of human neutrophils. *Immunol Rev.* 2016 Sep;273(1):11-28. doi: 10.1111/imr.12440. PMID: 27558325.
87. Weaver CT, Elson CO, Fouser LA, Kolls JK: The Th17 pathway and inflammatory diseases of the intestines, lungs, and skin. *Annu. Rev. Pathol.* 2013; 8:477–512.
88. Cortés-Vieyra R, Rosales C, Uribe-Querol E. Neutrophil Functions in Periodontal Homeostasis. *J Immunol Res.* 2016;2016:1396106. doi: 10.1155/2016/1396106. Epub 2016 Feb 25. PMID: 27019855; PMCID: PMC4785262.

89. Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol*. 2007 Sep;7(9):678-89. doi: 10.1038/nri2156. PMID: 17717539.
90. Kolaczkowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2013 Mar;13(3):159-75. doi: 10.1038/nri3399. PMID: 23435331.
91. Eskin MA, Jotwani R, et al. The leukocyte integrin antagonist Del-1 inhibits IL-17-mediated inflammatory bone loss. *Nat Immunol*. 2012 Mar 25;13(5):465-73. doi: 10.1038/ni.2260. PMID: 22447028; PMCID: PMC3330141.
92. Kennedy AD, DeLeo FR. Neutrophil apoptosis and the resolution of infection. *Immunol Res*. 2009;43(1-3):25-61. doi: 10.1007/s12026-008-8049-6. PMID: 19066741.
93. Martin C, Burdon PC, Bridger G, Gutierrez-Ramos JC, Williams TJ, Rankin SM. Chemokines acting via CXCR2 and CXCR4 control the release of neutrophils from the bone marrow and their return following senescence. *Immunity*. 2003 Oct;19(4):583-93. doi: 10.1016/s1074-7613(03)00263-2. PMID: 14563322.
94. Altnauer F, Martinelli S, Yousefi S, Thürig C, Schmid I, Conway EM, Schöni MH, Vogt P, Mueller C, Fey MF, Zangemeister-Wittke U, Simon HU. Inflammation-associated cell cycle-independent block of apoptosis by survivin in terminally differentiated neutrophils. *J Exp Med*. 2004 May 17;199(10):1343-54. doi: 10.1084/jem.20032033. PMID: 15148334; PMCID: PMC2211817.
95. Pham CT: Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation. *Nat. Rev. Immunol*. 2006 6:541–550. DOI: 10.1038/nri1841.
96. Faurschou M, Borregaard N: Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes Infect*. 2003; 5:1317–1327.
97. Borregaard N, Kjeldsen L, Rygaard K, Bastholm L, Nielsen MH, Sengeløv H, Bjerrum OW, Johnsen AH. Stimulus-dependent secretion of plasma proteins from human neutrophils. *J Clin Invest*. 1992 Jul;90(1):86-96. doi: 10.1172/JCI115860. PMID: 1378856; PMCID: PMC443066.

98. Rørvig S, Østergaard O, Heegaard NH, Borregaard N. Proteome profiling of human neutrophil granule subsets, secretory vesicles, and cell membrane: correlation with transcriptome profiling of neutrophil precursors. *J Leukoc Biol.* 2013 Oct;94(4):711-21. doi: 10.1189/jlb.1212619. Epub 2013 May 6. PMID: 23650620.
99. Bainton DF, Farquhar MG. Origin of granules in polymorphonuclear leukocytes. Two types derived from opposite faces of the Golgi complex in developing granulocytes. *J Cell Biol.* 1966 Feb;28(2):277-301. doi: 10.1083/jcb.28.2.277. PMID: 5914694; PMCID: PMC2106917.
100. Thaysen-Andersen M, Venkatakrisnan V, Loke I, Laurini C, Diestel S, Parker BL, Packer NH. Human neutrophils secrete bioactive paucimannosidic proteins from azurophilic granules into pathogen-infected sputum. *J Biol Chem.* 2015 Apr 3;290(14):8789-802. doi: 10.1074/jbc.M114.631622. Epub 2015 Feb 2. PMID: 25645918; PMCID: PMC4423670.
101. Clemmensen SN, Udby L, Borregaard N. Subcellular fractionation of human neutrophils and analysis of subcellular markers. *Methods Mol Biol.* 2014;1124:53-76. doi: 10.1007/978-1-62703-845-4_5. PMID: 24504946.
102. Rice WG, Ganz T, Kinkade JM Jr, Selsted ME, Lehrer RI, Parmley RT. Defensin-rich dense granules of human neutrophils. *Blood.* 1987 Sep;70(3):757-65. PMID: 3040155.
103. Oren A, Taylor JM. The subcellular localization of defensins and myeloperoxidase in human neutrophils: immunocytochemical evidence for azurophil granule heterogeneity. *J Lab Clin Med.* 1995 Mar;125(3):340-7. PMID: 7897301.
104. Faurschou M, Sørensen OE, Johnsen AH, Askaa J, Borregaard N. Defensin-rich granules of human neutrophils: characterization of secretory properties. *Biochim Biophys Acta.* 2002 Aug 19;1591(1-3):29-35. doi: 10.1016/s0167-4889(02)00243-4. PMID: 12183052.
105. Bainton DF, Farquhar MG. Differences in enzyme content of azurophil and specific granules of polymorphonuclear leukocytes. I. Histochemical staining of bone marrow smears. *J Cell Biol.* 1968 Nov;39(2):286-98. doi: 10.1083/jcb.39.2.286. PMID: 4878049; PMCID: PMC2107529.

106. Bainton DF, Farquhar MG. Differences in enzyme content of azurophil and specific granules of polymorphonuclear leukocytes. II. Cytochemistry and electron microscopy of bone marrow cells. *J Cell Biol.* 1968 Nov;39(2):299-317. doi: 10.1083/jcb.39.2.299. PMID: 5692583; PMCID: PMC2107532.
107. Pereira HA, Shafer WM, Pohl J, Martin LE, Spitznagel JK. CAP37, a human neutrophil-derived chemotactic factor with monocyte specific activity. *J Clin Invest.* 1990 May;85(5):1468-76. doi: 10.1172/JCI114593. PMID: 2332502; PMCID: PMC296594.
108. Sengeløv H, Follin P, Kjeldsen L, Lollike K, Dahlgren C, Borregaard N. Mobilization of granules and secretory vesicles during in vivo exudation of human neutrophils. *J Immunol.* 1995 Apr 15;154(8):4157-65. PMID: 7535822.
109. Sengeløv H, Kjeldsen L, Borregaard N. Control of exocytosis in early neutrophil activation. *J Immunol.* 1993 Feb 15;150(4):1535-43. PMID: 8381838.
110. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. (2004): Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 303: 1532-1535.
111. Takei H, Araki A, Watanabe H, Ichinose A, Sendo F. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis. *J Leukoc Biol.* 1996 Feb;59(2):229-40. doi: 10.1002/jlb.59.2.229. PMID: 8603995.
112. Urban CF, Reichard U, Brinkmann V, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms. *Cell Microbiol.* 2006 Apr;8(4):668-76. doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00659.x. PMID: 16548892.
113. Pruchniak MP, Arazna M, Demkow U. Life of neutrophil: from stem cell to neutrophil extracellular trap. *Respir Physiol Neurobiol.* 2013 Jun 1;187(1):68-73. doi: 10.1016/j.resp.2013.02.023. Epub 2013 Mar 1. PMID: 23466607.
114. Yu Y, Su K (2013): Neutrophil extracellular traps and systemic lupus erythematosus. *J Clin Cell Immunol* 4.
115. Branzk N, Papayannopoulos V. Molecular mechanisms regulating NETosis in infection and disease. *Semin Immunopathol.* 2013 Jul;35(4):513-30. doi:

- 10.1007/s00281-013-0384-6. Epub 2013 Jun 4. PMID: 23732507; PMCID: PMC3685711.
116. Manda A, Pruchniak MP, Araźna M, Demkow UA. Neutrophil extracellular traps in physiology and pathology. *Cent Eur J Immunol.* 2014;39(1):116-21. doi: 10.5114/ceji.2014.42136. Epub 2014 Apr 17. PMID: 26155111; PMCID: PMC4439979.
 117. Metzler KD, Goosmann C, Lubojemska A, Zychlinsky A, Papayannopoulos V. A myeloperoxidase-containing complex regulates neutrophil elastase release and actin dynamics during NETosis. *Cell Rep.* 2014 Aug 7;8(3):883-96. doi: 10.1016/j.celrep.2014.06.044. Epub 2014 Jul 24. PMID: 25066128; PMCID: PMC4471680.
 118. Papayannopoulos V, Metzler KD, Hakkim A, Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol.* 2010 Nov 1;191(3):677-91. doi: 10.1083/jcb.201006052. Epub 2010 Oct 25. PMID: 20974816; PMCID: PMC3003309.
 119. Clark SR, Ma AC, Tavenier SA, et al. (2007): Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med* 13: 463-469.
 120. Vorobjeva NV, Chernyak BV. NETosis: Molecular Mechanisms, Role in Physiology and Pathology. *Biochemistry (Mosc).* 2020 Oct;85(10):1178-1190. doi: 10.1134/S0006297920100065. PMID: 33202203; PMCID: PMC7590568.
 121. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, Weinrauch Y, Brinkmann V, Zychlinsky A. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol.* 2007 Jan 15;176(2):231-41. doi: 10.1083/jcb.200606027. Epub 2007 Jan 8. PMID: 17210947; PMCID: PMC2063942.
 122. Remijsen Q, Vanden Berghe T, Wirawan E, Asselbergh B, Parthoens E, De Rycke R, Noppen S, Delforge M, Willems J, Vandenabeele P. Neutrophil extracellular trap cell death requires both autophagy and superoxide generation. *Cell Res.* 2011 Feb;21(2):290-304. doi: 10.1038/cr.2010.150. Epub 2010 Nov 9. PMID: 21060338; PMCID: PMC3193439.

123. Pilsczek FH, Salina D, Poon KK, et al. (2010): A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol* 185: 7413-7425.
124. Hakkim A, Fuchs TA, Martinez NE, Hess S, Prinz H, Zychlinsky A, Waldmann H. Activation of the Raf-MEK-ERK pathway is required for neutrophil extracellular trap formation. *Nat Chem Biol.* 2011 Feb;7(2):75-7. doi: 10.1038/nchembio.496. Epub 2010 Dec 19. PMID: 21170021.
125. Schultz J, Kaminker K. Myeloperoxidase of the leucocyte of normal human blood. I. Content and localization. *Arch Biochem Biophys.* 1962 Mar;96:465-7. doi: 10.1016/0003-9861(62)90321-1. PMID: 13909511.
126. Xiao X, Saha P, Yeoh BS, Hipp JA, Singh V, Vijay-Kumar M. Myeloperoxidase deficiency attenuates systemic and dietary iron-induced adverse effects. *J Nutr Biochem.* 2018 Dec;62:28-34. doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.08.003. Epub 2018 Aug 21. PMID: 30218980; PMCID: PMC6263781.
127. Nelson, DL, Cox, MM. *Lehninger, Principles of Biochemistry.* 3rd Ed. Worth Publishing: New York, 2000. ISBN 1-57259-153-6.
128. Nauseef WM, Olsson I, Arnljots K. Biosynthesis and processing of myeloperoxidase--a marker for myeloid cell differentiation. *Eur J Haematol.* 1988 Feb;40(2):97-110. doi: 10.1111/j.1600-0609.1988.tb00805.x. PMID: 2831080.
129. Pahwa R, Modi P, Jialal I. Myeloperoxidase Deficiency. 2020 Aug 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. PMID: 29262241.
130. Davies MJ. Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention. *J Clin Biochem Nutr.* 2011 Jan;48(1):8-19. doi: 10.3164/jcbrn.11-006FR. Epub 2010 Dec 28. PMID: 21297906; PMCID: PMC3022070.
131. Babior BM. The respiratory burst oxidase. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 1992;65:49-95. doi: 10.1002/9780470123119.ch2. PMID: 1570769.
132. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 1995;64:97-112. doi: 10.1146/annurev.bi.64.070195.000525. PMID: 7574505.
133. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med.* 2000 Jul;109(1):33-44. doi: 10.1016/s0002-9343(00)00481-2. PMID: 10936476.

134. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase-halide-hydrogen peroxide antibacterial system. *J Bacteriol.* 1968 Jun;95(6):2131-8. doi: 10.1128/JB.95.6.2131-2138.1968. PMID: 4970226; PMCID: PMC315145.
135. Davies MJ, Hawkins CL, Pattison DI, Rees MD. Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxid Redox Signal.* 2008 Jul;10(7):1199-234. doi: 10.1089/ars.2007.1927. PMID: 18331199.
136. Kettle AJ, Winterbourn CC. Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophil oxidant production. *Redox Rep.* 1997 Feb;3(1):3-15. doi: 10.1080/13510002.1997.11747085. PMID: 27414766.
137. van der Veen BS, de Winther MP, Heeringa P. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease. *Antioxid Redox Signal.* 2009 Nov;11(11):2899-937. doi: 10.1089/ars.2009.2538.
138. Boxer LA, Smolen JE. Neutrophil granule constituents and their release in health and disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 1988;2:101-134.
139. Falloon J, Gallin JI. Neutrophil granules in health and disease. *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:653-662.
140. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med.* 1989 Feb 9;320(6):365-76. doi: 10.1056/NEJM198902093200606. PMID: 2536474.
141. Taichman NS, Tsai CC, Baehni PC, Stoller N, McArthur WP. Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. IV. In vitro release of lysosomal constituents from polymorphonuclear leukocytes exposed to supragingival and subgingival bacterial plaque. *Infect Immun.* 1977 Jun;16(3):1013-23. doi: 10.1128/IAI.16.3.1013-1023.1977. PMID: 197005; PMCID: PMC421064.
142. Miller C, Russell AS. Polymorphonuclear leukocyte response to stimulation in vitro during pregnancy. *Inflammation.* 1986 Sep;10(3):215-22. doi: 10.1007/BF00916117. PMID: 3017855.
143. Nakashima K, Demeurisse C, Cimasoni G. The recovery efficiency of various materials for sampling enzymes and polymorphonuclear leukocytes from gingival crevices. *J Clin Periodontol.* 1994 Aug;21(7):479-83. doi: 10.1111/j.1600-051x.1994.tb00411.x. PMID: 7929860.
144. Owen CA, Campbell EJ. The cell biology of leukocyte-mediated proteolysis. *J Leukoc Biol.* 1999 Feb;65(2):137-50. doi: 10.1002/jlb.65.2.137. PMID: 10088596.

145. Cimasoni, G. & Kowashi, Y. (1980) Proteinases of the gingival crevice and their inhibitors. In: Lehner, T. & Cimasoni, G. (eds.): *Borderland between caries and periodontal diseases*, vol. II. London: Academic Press, pp. 31-39.
146. Dallegri F, Ottonello L. Tissue injury in neutrophilic inflammation. *Inflamm Res*. 1997 Oct;46(10):382-91. doi: 10.1007/s000110050208. PMID: 9372309.
147. Watanabe H, Hattori S, Katsuda S, Nakanishi I, Nagai Y. Human neutrophil elastase: degradation of basement membrane components and immunolocalization in the tissue. *J Biochem*. 1990 Nov; 108(5):753-9. doi:10.1093/oxfordjournals.jbchem.a123277. PMID: 1982000.
148. Gustafsson A. et al. Granulocyte elastase in gingival crevicular fluid. A possible discriminator between gingivitis and periodontitis. *J. Clin. Periodontol*. 1992; 19: 535-540.
149. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000. 2003;31:77-104. doi: 10.1034/j.1600-0757.2003.03106.x. PMID: 12656997.
150. Chidwick K, Whichelow CE, Zhang Z, Fairburn K, Sachs JA, Blake DR, Winyard PG. Relationship between alpha 1-antitrypsin inactivation and tumor necrosis factor alpha concentration in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1994 Dec;37(12):1723-6. doi: 10.1002/art.1780371203. PMID: 7986217.
151. Suter S, Chevallier I. Proteolytic inactivation of alpha 1-proteinase inhibitor in infected bronchial secretions from patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 1991 Jan;4(1):40-9. PMID: 2026237.
152. Lodge K. M., Cowburn A. S., Li W., Condliffe A. M. The impact of hypoxia on neutrophil degranulation and consequences for the host. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21:1183. doi: 10.3390/ijms21041183.
153. Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammollo CT, Semeraro F, Taylor FB, Esmon NL, Lupu F, Esmon CT. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med*. 2009 Nov;15(11):1318-21. doi: 10.1038/nm.2053. Epub 2009 Oct 25. PMID: 19855397; PMCID: PMC2783754.
154. Belkaid Y, Naik S. Compartmentalized and systemic control of tissue immunity by commensals. *Nat Immunol*. 2013 Jul;14(7):646-53. doi: 10.1038/ni.2604. PMID: 23778791; PMCID: PMC3845005.

155. Belkaid Y. Tailored immunity at mucosae. *Immunol Rev.* 2014 Jul;260(1):5-7. doi: 10.1111/imr.12197. PMID: 24942677; PMCID: PMC4976456.
156. Attström R, Egelberg J. Emigration of blood neutrophils and monocytes into the gingival crevices. *J Periodont Res* 1970;5:42-47.
157. Phillipson M, Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation. *Nature Med.* 17, 1381–1390 (2011).
158. Curtis MA, Zenobia C, Darveau RP: The relationship of the oral microbiota to periodontal health and disease. *Cell Host Microbe* 2011 10:302–306. DOI: 10.1016/j.chom.2011.09.008.
159. Cicchetti G, Allen PG, Glogauer M. Chemotactic signaling pathways in neutrophils: from receptor to actin assembly. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(3):220-8. doi: 10.1177/154411130201300302. PMID: 12090462.
160. Scott DA, Krauss J. Neutrophils in periodontal inflammation. *Front Oral Biol.* 2012;15:56-83. doi: 10.1159/000329672. Epub 2011 Nov 11. PMID: 22142957; PMCID: PMC3335266.
161. Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol.* 1997 Mar;2(1):123-37. doi: 10.1902/annals.1997.2.1.123. PMID: 9151549.
162. Smith QT, Au GS, Freese PL, Osborn JB, Stoltenberg JL. Five parameters of gingival crevicular fluid from eight surfaces in periodontal health and disease. *J Periodontal Res.* 1992 Sep;27(5):466-75. doi: 10.1111/j.1600-0765.1992.tb01819.x. PMID: 1328590.
163. Bang J, Cimasoni G, Held AJ. Beta-glucuronidase correlated with inflammation in the exudate from human gingiva. *Arch Oral Biol.* 1970 May;15(5):445-51. doi: 10.1016/0003-9969(70)90071-3. PMID: 5270175.
164. Lamster IB, Novak MJ. Host mediators in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1992;3(1-2):31-60. doi: 10.1177/10454411920030010501. PMID: 1730070.
165. Harper DS, Lamster IB, Celenti R. Relationship of subgingival plaque flora to lysosomal and cytoplasmic enzyme activity in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol.* 1989 Mar;16(3):164-9. doi: 10.1111/j.1600-051x.1989.tb01634.x. PMID: 2656765.

166. Lamster IB, Holmes LG, Gross KB, Oshrain RL, Cohen DW, Rose LF, Peters LM, Pope MR. The relationship of beta-glucuronidase activity in crevicular fluid to probing attachment loss in patients with adult periodontitis. Findings from a multicenter study. *J Clin Periodontol*. 1995 Jan;22(1):36-44. doi: 10.1111/j.1600-051x.1995.tb01768.x. PMID: 7706537.
167. Lamster IB, Oshrain RL, Harper DS, Celenti RS, Hovliaras CA, Gordon JM. Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patients with chronic adult periodontitis. Six month results. *J Periodontol*. 1988 Aug;59(8):516-23. doi: 10.1902/jop.1988.59.8.516. PMID: 3050019.
168. Lamster IB, Holmes LG, Gross KB, et al. The relationship of beta-glucuronidase activity in crevicular fluid to clinical parameters of periodontal disease. Findings from a multicenter study. *J Clin Periodontol* 1994;21:118-127.
169. Albandar JM, Kingman A, Lamster IB. Crevicular fluid level of beta-glucuronidase in relation to clinical periodontal parameters and putative periodontal pathogens in early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998;25: 630-639.
170. Lamster IB, Pullman JR, Celenti RS, Grbic JT. The effect of tetracycline fiber therapy on beta-glucuronidase and interleukin-1 beta in crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1996;23:816-822.
171. Layik M, Yamalik N, Caglayan F, Kilinc K, Etikan I, Eratalay K. Analysis of human gingival tissue and gingival crevicular fluid beta-glucuronidase activity in specific periodontal diseases. *J Periodontol* 2000;71:618- 624.
172. McCulloch CA. Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1994 Aug;21(7):497-506. doi: 10.1111/j.1600-051x.1994.tb00414.x. PMID: 7929863.
173. Armitage GC, Jeffcoat MK, Chadwick DE, Taggart EJ Jr, Numabe Y, Landis JR, Weaver SL, Sharp TJ. Longitudinal evaluation of elastase as a marker for the progression of periodontitis. *J Periodontol*. 1994 Feb;65(2):120-8. doi: 10.1902/jop.1994.65.2.120. PMID: 8158508.
174. Cox SW, Eley BM. Cathepsin B/L-, elastase-, tryptase-, trypsin- and dipeptidyl peptidase IV-like activities in gingival crevicular fluid. A comparison of levels before and after basic periodontal treatment of chronic periodontitis patients. *J Clin*

- Periodontol. 1992 May;19(5):333-9. doi: 10.1111/j.1600-051x.1992.tb00655.x. PMID: 1355496.
175. Darany DG, Beck FM, Walters JD. The relationship of gingival fluid leukocyte elastase activity to gingival fluid flow rate. *J Periodontol.* 1992 Sep;63(9):743-7. doi: 10.1902/jop.1992.63.9.743. PMID: 1474474.
 176. Uitto VJ, Nieminen A, Coil J, Hurttia H, Larjava H. Oral fluid elastase as an indicator of periodontal health. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 30–37.
 177. Palcanis KG, Larjava IK, Wells BR, Suggs KA, Landis JR, Chadwick DE, Jeffcoat MK. Elastase as an indicator of periodontal disease progression. *J Periodontol.* 1992 Apr;63(4):237-42. doi: 10.1902/jop.1992.63.4.237. PMID: 1573538.
 178. Kaner D, Bernimoulin JP, Kleber BM, Heizmann WR, Friedmann A. Gingival crevicular fluid levels of calprotectin and myeloperoxidase during therapy for generalized aggressive periodontitis. *J Periodontal Res.* 2006 Apr;41(2):132-9. doi: 10.1111/j.1600-0765.2005.00849.x. PMID: 16499716.
 179. Wolff LF, Smith QT, Snyder WK, Bedrick JA, Liljemark WF, Aeppli DA, Bandt CL. Relationship between lactate dehydrogenase and myeloperoxidase levels in human gingival crevicular fluid and clinical and microbial measurements. *J Clin Periodontol.* 1988 Feb;15(2):110-5. doi: 10.1111/j.1600-051x.1988.tb01003.x. PMID: 2831251.
 180. Over C, Yamalik N, Yavuzylmaz E, Ersoy F, Eratalay K. Myeloperoxidase activity in peripheral blood, neutrophil crevicular fluid and whole saliva of patients with periodontal disease. *J Nihon Univ Sch Dent.* 1993 Dec;35(4):235-40. doi: 10.2334/josnugd1959.35.235. PMID: 8158283.
 181. Brill N, Björn H. Passage of Tissue Fluid Into Human Gingival Pockets. *Acta Odontologica Scandinavica.* 1959. 17:1, 11-21, doi: 10.3109/00016355909011229
 182. Lin PH, Yeh SK, et al. Research performance of biomarkers from biofluids in periodontal disease publications. *J. Dent. Sci.* 2015;10:61–67. doi: 10.1016/j.jds.2013.06.007.
 183. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol* 2000. 2016 Feb;70(1):53-64. doi: 10.1111/prd.12107. PMID: 26662482; PMCID: PMC4911175.

184. Tsuchida S, Satoh M, et al. Proteomic analysis of gingival crevicular fluid for discovery of novel periodontal disease markers. *Proteomics*. 2012 Jul;12(13):2190-202. doi: 10.1002/pmic.201100655. PMID: 22623421.
185. Challacombe SJ, Russell MW, Hawkes J. Passage of intact IgG from plasma to the oral cavity via crevicular fluid. *Clin Exp Immunol*. 1978 Dec;34(3):417-22. PMID: 105828; PMCID: PMC1537551.
186. Cimasoni G. Crevicular fluid updated. *Monogr Oral Sci*. 1983;12:III-VII, 1-152. PMID: 6348520.
187. Bickel M, Munoz JL, Giovannini P. Acid-Base Properties of Human Gingival Crevicular Fluid. *J Dental Research*. 1985 64(10), 1218–1220. doi:10.1177/00220345850640100801
188. Khurshid Z, Mali M, Naseem M, Najeeb S, Zafar MS. Human Gingival Crevicular Fluids (GCF) Proteomics: An Overview. *Dent J (Basel)*. 2017 Feb 22;5(1):12. doi: 10.3390/dj5010012. PMID: 29563418; PMCID: PMC5806989.
189. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (US) Office on Smoking and Health. The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention (US); 2014. PMID: 24455788.
190. Wald NJ, Hackshaw AK. Cigarette smoking: an epidemiological overview. *Br Med Bull*. 1996 Jan;52(1):3-11. doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a011530. PMID: 8746292.
191. Ward KD, Klesges RC. A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density. *Calcif Tissue Int*. 2001 May;68(5):259-70. doi: 10.1007/BF02390832. PMID: 11683532; PMCID: PMC5352985.
192. Bergström J, Preber H. Tobacco use as a risk factor. *J Periodontol*. 1994 May;65 Suppl 5S:545-550. doi: 10.1902/jop.1994.65.5s.545. PMID: 29539765.
193. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, Norderyd OM, Genco RJ. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol*. 1994 Mar;65(3):260-7. doi: 10.1902/jop.1994.65.3.260. PMID: 8164120.
194. Tonetti MS. Cigarette smoking and periodontal diseases: etiology and management of disease. *Ann Periodontol*. 1998 Jul; 3(1):88-101. doi:10.1902/annals.1998.3.1.88. PMID: 9722693.

195. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, Bernstein L, Schoenberg JB, Stemhagen A, Fraumeni JF Jr. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.* 1988 Jun 1;48(11):3282-7. PMID: 3365707.
196. American Academy of Periodontology. Tobacco use and the periodontal patient (position paper). *J Periodontol* 1999;70:1419-1427.
197. Benowitz NL, Jacob P 3rd. Daily intake of nicotine during cigarette smoking. *Clin Pharmacol Ther.* 1984 Apr;35(4):499-504. doi: 10.1038/clpt.1984.67. PMID: 6705448.
198. Benowitz, N. L., Hukkanen, J., & Jacob, P. (n.d.). Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers. *Nicotine Psychopharmacology*, 29–60. doi:10.1007/978-3-540-69248-5_2.
199. Gori GB, Benowitz NL, Lynch CJ. Mouth versus deep airways absorption of nicotine in cigarette smokers. *Pharmacol Biochem Behav.* 1986 Dec;25(6):1181-4. doi: 10.1016/0091-3057(86)90108-5. PMID: 3809219.
200. Armitage A, Dollery C, Houseman T, Kohner E, Lewis PJ, Turner D. Absorption of nicotine from small cigars. *Clin Pharmacol Ther.* 1978 Feb;23(2):143-51. doi: 10.1002/cpt1978232143. PMID: 620474.
201. Pankow JF. A Consideration of the Role of Gas/Particle Partitioning in the Deposition of Nicotine and Other Tobacco Smoke Compounds in the Respiratory Tract. *Chemical Research in Toxicology*, 2001. 14(11), 1465-1481. doi:10.1021/tx0100901
202. Benowitz NL. Clinical pharmacology of inhaled drugs of abuse: implications in understanding nicotine dependence. *NIDA Res Monogr.* 1990;99:12-29. PMID: 2267009.
203. Dani JA, Ji D, Zhou FM. Synaptic plasticity and nicotine addiction. *Neuron* 2001;31:349-52.
204. Jones S, Sudweeks S, Yakel JL. Nicotinic receptors in the brain: Correlating physiology with function. *Trends Neurosci* 1999;22:555-61.
205. Sobkowiak R, Lesicki A. Absorption, metabolism and excretion of nicotine in humans. *Postepy Biochem.* 2013;59(1):33-44. PMID: 23821941.

206. Heeschen C, Jang JJ, et al. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. *Nat Med.* 2001 Jul;7(7):833-9. doi: 10.1038/89961. PMID: 11433349.
207. Shin VY, Wu WK, et al. Nicotine induces cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor receptor-2 in association with tumor-associated invasion and angiogenesis in gastric cancer. *Mol Cancer Res.* 2005 Nov;3(11):607-15. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-05-0106. PMID: 16317086.
208. Pérez-Sayáns M, Somoza-Martín JM, et al. Beta-adrenergic receptors in cancer: therapeutic implications. *Oncol Res.* 2010;19(1):45-54. doi: 10.3727/096504010x12828372551867. PMID: 21141740.
209. Wassenaar CA, Dong Q, Amos CI, Spitz MR, Tyndale RF. Pilot study of CYP2B6 genetic variation to explore the contribution of nitrosamine activation to lung carcinogenesis. *Int J Mol Sci.* 2013;14:8381–92.
210. Schuller HM, McGavin MD, Orloff M, Riechert A, Porter B. Simultaneous exposure to nicotine and hyperoxia causes tumors in hamsters. *Lab Invest.* 1995;73:448–56.
211. Nakada T, Kiyotani K, Iwano S, Uno T, Yokohira M, Yamakawa K, et al. Lung tumorigenesis promoted by anti-apoptotic effects of cotinine, a nicotine metabolite through activation of PI3K/Akt pathway. *J Toxicol Sci.* 2012;37:555–63.
212. Jensen K, Afroze S, Munshi MK, Guerrier M, Glaser SS. Mechanisms for nicotine in the development and progression of gastrointestinal cancers. *Transl Gastrointest Cancer.* 2012;1:81–87.
213. Al-Wadei HA, Plummer HK, Schuller HM. Nicotine stimulates pancreatic cancer xenografts by systemic increase in stress neurotransmitters and suppression of the inhibitory neurotransmitter gamma-aminobutyric acid. *Carcinogenesis.* 2009;30:506–11.
214. Crowley-Weber CL, Dvorakova K, Crowley C, Bernstein H, Bernstein C, Garewal H, Payne CM. Nicotine increases oxidative stress, activates NF-kappaB and GRP78, induces apoptosis and sensitizes cells to genotoxic/xenobiotic stresses by a multiple stress inducer, deoxycholate: relevance to colon carcinogenesis. *Chem Biol Interact.* 2003 Mar 6;145(1):53-66. doi: 10.1016/s0009-2797(02)00162-x. PMID: 12606154.58.
215. Treviño JG, Pillai S, Kunigal S, Singh S, Fulp WJ, Centeno BA, et al. Nicotine induces inhibitor of differentiation-1 in a Src-dependent pathway promoting

- metastasis and chemoresistance in pancreatic adenocarcinoma. *Neoplasia*. 2012;14:1102–14
216. Chen CS, Lee CH, Hsieh CD, Ho CT, Pan MH, Huang CS, et al. Nicotine-induced human breast cancer cell proliferation attenuated by garcinol through down-regulation of the nicotinic receptor and cyclin D3 proteins. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;125:73–87.
 217. Barbour SE, Nakashima K, Zhang JB, Tangada S, Hahn CL, Schenkein HA, Tew JG. Tobacco and smoking: environmental factors that modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1997;8(4):437-60. doi: 10.1177/10454411970080040501. PMID: 9391754.
 218. Kinane DF, Chestnutt IG. Smoking and periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(3):356-65. doi: 10.1177/10454411000110030501. PMID: 11021635.
 219. Eichel B, Shahrik HA. Tobacco smoke toxicity: loss of human oral leukocyte function and fluid-cell metabolism. *Science*. 1969 Dec 12;166(3911):1424-8. doi: 10.1126/science.166.3911.1424. PMID: 5350347.
 220. Kenney EB, Kraal JH, Saxe SR, Jones J. The effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leukocytes. *J Periodontal Res*. 1977 Jul;12(4):227-34. doi: 10.1111/j.1600-0765.1977.tb00126.x. PMID: 142132.
 221. Lannan S, McLean A, Drost E, Gillooly M, Donaldson K, Lamb D, MacNee W. Changes in neutrophil morphology and morphometry following exposure to cigarette smoke. *Int J Exp Pathol*. 1992 Apr;73(2):183-91. PMID: 1571278; PMCID: PMC2002003.
 222. MacFarlane GD, Herzberg MC, Wolff LF, Hardie NA. Refractory periodontitis associated with abnormal polymorphonuclear leukocyte phagocytosis and cigarette smoking. *J Periodontol*. 1992 Nov;63(11):908-13. doi: 10.1902/jop.1992.63.11.908. PMID: 1333526.
 223. Pabst MJ, Pabst KM, Collier JA, et al. Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. *J Periodontol*. 1995 Dec;66(12):1047-55. doi:10.1902/jop.1995.66.12.1047. PMID: 8683417.
 224. Ryder MI, Fujitaki R, Johnson G, Hyun W. Alterations of neutrophil oxidative burst by in vitro smoke exposure: implications for oral and systemic diseases. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):76-87. doi: 10.1902/annals.1998.3.1.76. PMID: 9722692.

225. Ryder MI, Fujitaki R, Lebus S, Mahboub M, Faia B, Muhaimin D, Hamada M, Hyun W. Alterations of neutrophil L-selectin and CD18 expression by tobacco smoke: implications for periodontal diseases. *J Periodontal Res.* 1998 Aug;33(6):359-68. doi: 10.1111/j.1600-0765.1998.tb02211.x. PMID: 9777587.
226. Boström L, Linder LE, Bergström J. Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1999 Jun;26(6):352-7. doi: 10.1034/j.1600-051x.1999.260604.x. PMID: 10382574.
227. Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol.* 2003 Feb;30(2):145-53. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.300201.x. PMID: 12622857.
228. Rawlinson A, Grummitt JM, Walsh TF, Ian Douglas CW. Interleukin 1 and receptor antagonist levels in gingival crevicular fluid in heavy smokers versus non-smokers. *J Clin Periodontol.* 2003 Jan;30(1):42-8. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.300107.x. PMID: 12702110.
229. Ryder MI, Saghizadeh M, Ding Y, Nguyen N, Soskolne A. Effects of tobacco smoke on the secretion of interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta from peripheral blood mononuclear cells. *Oral Microbiol Immunol.* 2002 Dec;17(6):331-6. doi: 10.1034/j.1399-302x.2002.170601.x. PMID: 12485323.
230. Nowak D, Ruta U, Piasecka G. Nicotine increases human polymorphonuclear leukocytes chemotactic response--a possible additional mechanism of lung injury in cigarette smokers. *Exp Pathol.* 1990;39(1):37-43. doi: 10.1016/s0232-1513(11)80218-5. PMID: 2394238.
231. Johnson GK, Organ CC. Prostaglandin E2 and interleukin-1 concentrations in nicotine-exposed oral keratinocyte cultures. *J Periodontal Res.* 1997 Jul;32(5):447-54. doi: 10.1111/j.1600-0765.1997.tb00557.x. PMID: 9266496.
232. Wendell KJ, Stein SH. Regulation of cytokine production in human gingival fibroblasts following treatment with nicotine and lipopolysaccharide. *J Periodontol.* 2001 Aug;72(8):1038-44. doi: 10.1902/jop.2001.72.8.1038. PMID: 11525435.
233. Payne JB, Johnson GK, Reinhardt RA, Dyer JK, Maze CA, Dunning DG. Nicotine effects on PGE2 and IL-1 beta release by LPS-treated human monocytes. *J Periodontal Res.* 1996 Feb;31(2):99-104. doi: 10.1111/j.1600-0765.1996.tb00470.x. PMID: 8708946.

234. Palmer RM, Scott DA, Meekin TN, Poston RN, Odell EW, Wilson RF. Potential mechanisms of susceptibility to periodontitis in tobacco smokers. *J Periodontal Res.* 1999 Oct;34(7):363-9. doi: 10.1111/j.1600-0765.1999.tb02267.x. PMID: 10685362.
235. Mavropoulos A, Aars H, Brodin P. Hyperaemic response to cigarette smoking in healthy gingiva. *J Clin Periodontol.* 2003 Mar;30(3):214-21. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.10284.x. PMID: 12631179.
236. Mosely LH, Finseth F, Goody M. Nicotine and its effect on wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 1978 Apr;61(4):570-5. doi: 10.1097/00006534-197804000-00013. PMID: 635046.
237. Riebel GD, Boden SD, Whitesides TE, Hutton WC. The effect of nicotine on incorporation of cancellous bone graft in an animal model. *Spine (Phila Pa 1976).* 1995 Oct 15;20(20):2198-202. doi: 10.1097/00007632-199510001-00004. PMID: 8545712.
238. Hollinger JO, Schmitt JM, Hwang K, Soleymani P, Buck D. Impact of nicotine on bone healing. *J Biomed Mater Res.* 1999 Jun 15;45(4):294-301. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(19990615)45:4<294::aid-jbm3>3.0.co;2-1. Erratum in: *J Biomed Mat Res* 1999 Sep 5;46(3):438-9. PMID: 10321701.
239. Cuff MJ, McQuade MJ, Scheidt MJ, Sutherland DE, Van Dyke TE. The presence of nicotine on root surfaces of periodontally diseased teeth in smokers. *J Periodontol.* 1989 Oct;60(10):564-9. doi: 10.1902/jop.1989.60.10.564. PMID: 2681674.
240. Tanur E, McQuade MJ, McPherson JC, Al-Hashimi IH, Rivera-Hidalgo F. Effects of nicotine on the strength of attachment of gingival fibroblasts to glass and non-diseased human root surfaces. *J Periodontol.* 2000 May;71(5):717-22. doi: 10.1902/jop.2000.71.5.717. PMID: 10872951.
241. Raulin LA, McPherson JC 3rd, McQuade MJ, Hanson BS. The effect of nicotine on the attachment of human fibroblasts to glass and human root surfaces in vitro. *J Periodontol.* 1988 May;59(5):318-25. doi: 10.1902/jop.1988.59.5.318. PMID: 3164382.
242. Austin GW, Cuenin MF, Hokett SD, Peacock ME, Sutherland DE, Erbland JF, Billman MA. Effect of nicotine on fibroblast beta 1 integrin expression and distribution in vitro. *J Periodontol.* 2001 Apr;72(4):438-44. doi: 10.1902/jop.2001.72.4.438. PMID: 11338295.

243. Tipton DA, Dabbous MK. Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol*. 1995 Dec;66(12):1056-64. doi: 10.1902/jop.1995.66.12.1056. PMID: 8683418.
244. Gamal AY, Bayomy MM. Effect of cigarette smoking on human PDL fibroblasts attachment to periodontally involved root surfaces in vitro. *J Clin Periodontol*. 2002 Aug;29(8):763-70. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.290814.x. PMID: 12390574.
245. Theiss SM, Boden SD, Hair G, Titus L, Morone MA, Ugbo J. The effect of nicotine on gene expression during spine fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2000 Oct 15;25(20):2588-94. doi: 10.1097/00007632-200010150-00008. PMID: 11034642.
246. Bergström J, Floderus-Myrhed B. Co-twin control study of the relationship between smoking and some periodontal disease factors. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1983 Apr;11(2):113-6. doi: 10.1111/j.1600-0528.1983.tb01367.x. PMID: 6573237.
247. Bergström J. Oral hygiene compliance and gingivitis expression in cigarette smokers. *Scand J Dent Res*. 1990 Dec;98(6):497-503. doi: 10.1111/j.1600-0722.1990.tb01004.x. PMID: 2091245.
248. Danielsen B, Manji F, Nagelkerke N, Fejerskov O, Baelum V. Effect of cigarette smoking on the transition dynamics in experimental gingivitis. *J Clin Periodontol*. 1990 Mar;17(3):159-64. doi: 10.1111/j.1600-051x.1990.tb01080.x. PMID: 2319002.
249. Bergström J, Preber H. The influence of cigarette smoking on the development of experimental gingivitis. *J Periodontal Res*. 1986 Nov;21(6):668-76. doi: 10.1111/j.1600-0765.1986.tb01504.x. PMID: 2948000.
250. Holmes LG. Effects of smoking and/or vitamin C on crevicular fluid flow in clinically healthy gingiva. *Quintessence Int*. 1990 Mar;21(3):191-5. PMID: 2197667.
251. Bergström J, Persson L, Preber H. Influence of cigarette smoking on vascular reaction during experimental gingivitis. *Scand J Dent Res*. 1988 Feb;96(1):34-9. doi: 10.1111/j.1600-0722.1988.tb01405.x. PMID: 3422504.
252. Gelskey SC. Cigarette smoking and periodontitis: methodology to assess the strength of evidence in support of a causal association. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1999 Feb;27(1):16-24. doi: 10.1111/j.1600-0528.1999.tb01987.x. PMID: 10086922.
253. Hill AB. The environment and disease: Association or causation? *Proc R Acad Med* 1965;58:295-300.

254. Bergström J. Cigarette smoking as risk factor in chronic periodontal disease. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1989 Oct;17(5):245-7. doi: 10.1111/j.1600-0528.1989.tb00626.x. PMID: 2791514.
255. Haber J, Kent RL. Cigarette smoking in a periodontal practice. *J Periodontol.* 1992 Feb;63(2):100-6. doi: 10.1902/jop.1992.63.2.100. PMID: 1552463.
256. Locker D, Leake JL. Risk indicators and risk markers for periodontal disease experience in older adults living independently in Ontario, Canada. *J Dent Res.* 1993 Jan;72(1):9-17. doi: 10.1177/00220345930720011501. PMID: 8418114.
257. Grossi SG, Genco RJ, Machtei EE, Ho AW, Koch G, Dunford R, Zambon JJ, Hausmann E. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol.* 1995 Jan;66(1):23-9. doi: 10.1902/jop.1995.66.1.23. PMID: 7891246.
258. Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol.* 1996 Oct;67(10 Suppl):1041-9. doi: 10.1902/jop.1996.67.10.1041. PMID: 8910821.
259. Axelsson P, Paulander J, Lindhe J. Relationship between smoking and dental status in 35-, 50-, 65-, and 75-year-old individuals. *J Clin Periodontol.* 1998 Apr;25(4):297-305. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02444.x. PMID: 9565280.
260. Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey. *J Periodontol.* 2000 May;71(5):743-51. doi: 10.1902/jop.2000.71.5.743. PMID: 10872955.
261. Beck JD, Koch GG, Rozier RG, Tudor GE. Prevalence and risk indicators for periodontal attachment loss in a population of older community-dwelling blacks and whites. *J Periodontol.* 1990 Aug;61(8):521-8. doi: 10.1902/jop.1990.61.8.521. PMID: 2391631.
262. Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R, Joshipura K, Kent RL. Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. *J Periodontol.* 1993 Jan;64(1):16-23. doi: 10.1902/jop.1993.64.1.16. PMID: 8426285.
263. Calsina G, Ramón JM, Echeverría JJ. Effects of smoking on periodontal tissues. *J Clin Periodontol.* 2002 Aug;29(8):771-6. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.290815.x. PMID: 12390575.

264. Hyman JJ, Reid BC. Epidemiologic risk factors for periodontal attachment loss among adults in the United States. *J Clin Periodontol*. 2003 Mar;30(3):230-7. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.00157.x. PMID: 12631181.
265. Bergström J. Tobacco smoking and risk for periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2003 Feb;30(2):107-13. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.00272.x. PMID: 12622851.
266. Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):1-36. doi: 10.1902/annals.1996.1.1.1. PMID: 9118256.
267. Bergström J, Eliasson S. Noxious effect of cigarette smoking on periodontal health. *J Periodontal Res*. 1987 Nov;22(6):513-7. doi: 10.1111/j.1600-0765.1987.tb02364.x. PMID: 2963112. Nov;1(1):1-36. doi: 10.1902/annals.1996.1.1.1. PMID: 9118256.
268. Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J Clin Periodontol*. 2001 Apr;28(4):283-95. doi: 10.1034/j.1600-051x.2001.028004283.x. PMID: 11314883.
269. Linden GJ, Mullally BH. Cigarette smoking and periodontal destruction in young adults. *J Periodontol*. 1994 Jul;65(7):718-23. doi: 10.1902/jop.1994.65.7.718. PMID: 7608851.
270. Bergström J, Eliasson S. Cigarette smoking and alveolar bone height in subjects with a high standard of oral hygiene. *J Clin Periodontol*. 1987 Sep;14(8):466-9. doi: 10.1111/j.1600-051x.1987.tb02253.x. PMID: 3477575.
271. Bergström J, Eliasson S, Dock J. Exposure to tobacco smoking and periodontal health. *J Clin Periodontol*. 2000 Jan;27(1):61-8. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027001061.x. PMID: 10674963.
272. Bergström J, Eliasson S, Preber H. Cigarette smoking and periodontal bone loss. *J Periodontol*. 1991 Apr;62(4):242-6. doi: 10.1902/jop.1991.62.4.242. Erratum in: *J Periodontol* 1991 Dec;62(12):809. Erratum in: *J Periodontol*. 1991 Dec;62(12):809. PMID: 2037954.
273. Bergström J. Tobacco smoking and supragingival dental calculus. *J Clin Periodontol*. 1999 Aug;26(8):541-7. doi: 10.1034/j.1600-051x.1999.260808.x. PMID: 10450815.
274. Martinez-Canut P, Lorca A, Magán R. Smoking and periodontal disease severity. *J Clin Periodontol*. 1995 Oct;22(10):743-9. doi: 10.1111/j.1600-051x.1995.tb00256.x. PMID: 8682920.

275. van der Weijden GA, de Slegte C, Timmerman MF, van der Velden U. Periodontitis in smokers and non-smokers: intra-oral distribution of pockets. *J Clin Periodontol.* 2001 Oct;28(10):955-60. doi: 10.1034/j.1600-051x.2001.028010955.x. PMID: 11686814.
276. Bolin A, Eklund G, Frithiof L, Lavstedt S. The effect of changed smoking habits on marginal alveolar bone loss. A longitudinal study. *Swed Dent J.* 1993;17(5):211-6. PMID: 8291030.
277. Machtei EE, Dunford R, Hausmann E, Grossi SG, Powell J, Cummins D, Zambon JJ, Genco RJ. Longitudinal study of prognostic factors in established periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 1997 Feb;24(2):102-9. doi: 10.1111/j.1600-051x.1997.tb00474.x. PMID: 9062856.
278. Bergström J, Eliasson S, Dock J. A 10-year prospective study of tobacco smoking and periodontal health. *J Periodontol.* 2000 Aug;71(8):1338-47. doi: 10.1902/jop.2000.71.8.1338. PMID: 10972650.
279. Jansson L, Lavstedt S. Influence of smoking on marginal bone loss and tooth loss--a prospective study over 20 years. *J Clin Periodontol.* 2002 Aug;29(8):750-6. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.290812.x. PMID: 12390572.
280. Holm G. Smoking as an additional risk for tooth loss. *J Periodontol.* 1994 Nov;65(11):996-1001. doi: 10.1902/jop.1994.65.11.996. PMID: 7853136.
281. Beck JD, Sharp T, Koch GG, Offenbacher S. A 5-year study of attachment loss and tooth loss in community-dwelling older adults. *J Periodontal Res.* 1997 Aug;32(6):516-23. doi: 10.1111/j.1600-0765.1997.tb00567.x. PMID: 9379319.
282. Krall EA, Dawson-Hughes B, Garvey AJ, Garcia RI. Smoking, smoking cessation, and tooth loss. *J Dent Res.* 1997 Oct;76(10):1653-9. doi: 10.1177/00220345970760100601. PMID: 9326897.
283. McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. II. The effectiveness of clinical parameters in developing an accurate prognosis. *J Periodontol.* 1996 Jul;67(7):658-65. doi: 10.1902/jop.1996.67.7.658. PMID: 8832476.
284. Ahlqwist M, Bengtsson C, Hollender L, Lapidus L, Osterberg T. Smoking habits and tooth loss in Swedish women. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1989 Jun;17(3):144-7. doi: 10.1111/j.1600-0528.1989.tb00009.x. PMID: 2786792.
285. Chen X, Wolff L, Aepli D, Guo Z, Luan W, Baelum V, Fejeskov O. Cigarette smoking, salivary/gingival crevicular fluid cotinine and periodontal status. A 10-

- year longitudinal study. *J Clin Periodontol*. 2001 Apr;28(4):331-9. doi: 10.1034/j.1600-051x.2001.028004331.x. PMID: 11314889.
286. Preber H, Bergström J. The effect of non-surgical treatment on periodontal pockets in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol*. 1986 Apr;13(4):319-23. doi: 10.1111/j.1600-051x.1986.tb02229.x. PMID: 3458727.
 287. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1094-102. doi: 10.1902/jop.1996.67.10s.1094. PMID: 8910828.
 288. Grossi SG, Zambon J, Machtei EE, Schifferle R, Andreana S, Genco RJ, Cummins D, Harrap G. Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. *J Am Dent Assoc*. 1997 May;128(5):599-607. doi: 10.14219/jada.archive.1997.0259. PMID: 9150643.
 289. Renvert S, Dahlén G, Wikström M. The clinical and microbiological effects of non-surgical periodontal therapy in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb;25(2):153-7. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02421.x. PMID: 9495614.
 290. Jin L, Wong KY, Leung WK, Corbet EF. Comparison of treatment response patterns following scaling and root planing in smokers and non-smokers with untreated adult periodontitis. *J Clin Dent*. 2000;11(2):35-41. PMID: 11460281.
 291. Preber H, Bergström J. Effect of cigarette smoking on periodontal healing following surgical therapy. *J Clin Periodontol*. 1990 May;17(5):324-8. doi: 10.1111/j.1600-051x.1990.tb01098.x. PMID: 2355098.
 292. Ah MK, Johnson GK, Kaldahl WB, Patil KD, Kalkwarf KL. The effect of smoking on the response to periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1994 Feb;21(2):91-7. doi: 10.1111/j.1600-051x.1994.tb00285.x. PMID: 8144739.
 293. Kaldahl WB, Johnson GK, Patil KD, Kalkwarf KL. Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *J Periodontol*. 1996 Jul;67(7):675-81. doi: 10.1902/jop.1996.67.7.675. PMID: 8832478.
 294. Scabbia A, Cho KS, Sigurdsson TJ, Kim CK, Trombelli L. Cigarette smoking negatively affects healing response following flap debridement surgery. *J Periodontol*. 2001 Jan;72(1):43-9. doi: 10.1902/jop.2001.72.1.43. PMID: 11210072.
 295. Trombelli L, Cho KS, Kim CK, Scapoli C, Scabbia A. Impaired healing response of periodontal furcation defects following flap debridement surgery in smokers. *A*

- controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2003 Jan;30(1):81-7. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.10182.x. PMID: 12702115.
296. Albandar JM, Streckfus CF, Adesanya MR, Winn DM. Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. *J Periodontol*. 2000 Dec;71(12):1874-81. doi: 10.1902/jop.2000.71.12.1874. PMID: 11156044.
 297. Lambert PM, Morris HF, Ochi S. The influence of smoking on 3-year clinical success of osseointegrated dental implants. *Ann Periodontol*. 2000 Dec;5(1):79-89. doi: 10.1902/annals.2000.5.1.79. PMID: 11885185.
 298. Bain CA. Smoking and implant failure--benefits of a smoking cessation protocol. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996 Nov-Dec;11(6):756-9. PMID: 8990637.
 299. Global Adult Tobacco Survey, 2012, Turkey Report, Ministry of Health, Publication No: 948, Ankara, 2014
 300. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century--the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2003 Dec;31 Suppl 1:3-23. doi: 10.1046/j..2003.com122.x. PMID: 15015736.
 301. Brennan DS, Spencer AJ. Dimensions of oral health related quality of life measured by EQ-5D+ and OHIP-14. *Health Qual Life Outcomes*. 2004;2:35.
 302. Seymour GJ. Good oral health is essential for good general health: the oral systemic connection. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13(Suppl 4):1-2.
 303. Locker D, Allen F. What do measures of 'oral health-related quality of life' measure? *Community Dent Oral Epidemiol*. 2007 Dec;35(6):401-11. doi: 10.1111/j.1600-0528.2007.00418.x. PMID: 18039281.
 304. Sischo L, Broder HL. Oral health-related quality of life: what, why, how, and future implications. *J Dent Res*. 2011 Nov;90(11):1264-70. doi: 10.1177/0022034511399918. Epub 2011 Mar 21. PMID: 21422477; PMCID: PMC3318061.
 305. Slade GD. Oral health-related quality of life is important for patients, but what about populations?. 2012. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 40, 39-43. doi:10.1111/j.1600-0528.2012.00718.x
 306. Kuo LC, Polson AM, Kang T. Associations between periodontal diseases and systemic diseases: a review of the inter-relationships and interactions with diabetes,

- respiratory diseases, cardiovascular diseases and osteoporosis. *Public Health*. 2008;122(4):417–33.
307. Locker D, Clarke M, Payne B. Self-perceived oral health status, psychological well-being, and life satisfaction in an older adult population. *J Dent Res*. 2000;79:970–5.
 308. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ*. 2005;83:661–9.
 309. Reibel J. Tobacco and oral diseases. Update on the evidence with recommendations. *Med Princ Pract*. 2003;12(1):22–32.
 310. Dharmi B, Shrestha P, Humagain M. Effect of cigarette smoking on periodontal health status in Nepalese population: a cross-sectional study. *J Nepal Dent Assoc*. 2013; 13(2):16-21.
 311. Tellez M, Zini A, Estupiñan-Day S. Social determinants and oral health: an update. *Curr Oral Health Rep*. 2014;1:148–52.
 312. Petersen PE, Kwan S. Equity, social determinants and public health programmes - the case of oral health. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2011;39:481–7.
 313. Department of Health and Human Services (US). Reducing the health consequences of smoking: a report of the Surgeon General. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health; 1964.
 314. Bakri NN, Tsakos G, Masood M. Smoking status and oral health-related quality of life among adults in the United Kingdom. *Br Dent J*. 2018 Jul 27;225(2):153-158. doi: 10.1038/sj.bdj.2018.529. PMID: 30050198.
 315. Sagtani RA, Thapa S, Sagtani A. Smoking, general and oral health related quality of life - a comparative study from Nepal. *Health Qual Life Outcomes*. 2020 Jul 31;18(1):257. doi: 10.1186/s12955-020-01512-y. PMID: 32736560; PMCID: PMC7395342. *Nepal Dent Asssoc*. 2013;13(2):16–21.
 316. Reisine ST, Fertig J, Weber J, Leder S. Impact of dental conditions on patients' quality of life. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1989 Feb;17(1):7-10. doi: 10.1111/j.1600-0528.1989.tb01816.x. PMID: 2645088.
 317. Saletu A, Pirker-Frühauf H, Saletu F, Linzmayer L, Anderer P, Matejka M. Controlled clinical and psychometric studies on the relation between periodontitis

- and depressive mood. *J Clin Periodontol*. 2005 Dec;32(12):1219-25. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00855.x. PMID: 16268998.
318. Patel RR, Richards PS, Inglehart MR. Periodontal health, quality of life, and smiling patterns--an exploration. *J Periodontol*. 2008 Feb;79(2):224-31. doi: 10.1902/jop.2008.070344. PMID: 18251637.
 319. Ng SK, Leung WK. A community study on the relationship of dental anxiety with oral health status and oral health-related quality of life. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2008 Aug;36(4):347-56. doi: 10.1111/j.1600-0528.2007.00412.x. PMID: 19145721.
 320. Schneider C, Zemp E, Zitzmann NU. Dental care behaviour in Switzerland. *Swiss Dent J*. 2019 Jul 22;129(6):466-478. Epub 2019 Apr 29. PMID: 31032607.
 321. Ng SK, Leung WK. Oral health-related quality of life and periodontal status. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2006 Apr;34(2):114-22. doi: 10.1111/j.1600-0528.2006.00267.x. PMID: 16515675.
 322. Cunha-Cruz J, Hujoel PP, Kressin NR. Oral health-related quality of life of periodontal patients. *J Periodontal Res*. 2007 Apr;42(2):169-76. doi: 10.1111/j.1600-0765.2006.00930.x. PMID: 17305876.
 323. Bernabé E, Marcenes W. Periodontal disease and quality of life in British adults. *J Clin Periodontol*. 2010 Nov;37(11):968-72. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01627.x. Epub 2010 Sep 28. PMID: 20880054.
 324. Gerritsen AE, Allen PF, Witter DJ, Bronkhorst EM, Creugers NH. Tooth loss and oral health-related quality of life: a systematic review and meta-analysis. *Health Qual Life Outcomes*. 2010 Nov 5;8:126. doi: 10.1186/1477-7525-8-126. PMID: 21050499; PMCID: PMC2992503.
 325. Needleman I, McGrath C, Floyd P, Biddle A. Impact of oral health on the life quality of periodontal patients. *J Clin Periodontol*. 2004 Jun;31(6):454-7. doi: 10.1111/j.1600-051X.2004.00498.x. PMID: 15142215.
 326. Heitz-Mayfield LJ. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:196-209. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00803.x. PMID: 16128838.
 327. Cronin AJ, Claffey N, Stassen LF. Who is at risk? Periodontal disease risk analysis made accessible for the general dental practitioner. *Br Dent J*. 2008 Aug 9;205(3):131-7. doi: 10.1038/sj.bdj.2008.653. PMID: 18690185.

328. Garcia RI, Nunn ME, Dietrich T. Risk calculation and periodontal outcomes. *Periodontol* 2000. 2009;50:65-77. doi: 10.1111/j.1600-0757.2008.00290.x. PMID: 19388954.
329. Johnson, G. K. & Hill, M. (2004) Cigarette smoking and the periodontal patient. *Journal of Periodontology* 75, 196–209.
330. Trinidad, D. R. & Johnson, C. A. (2002) The association between emotional intelligence and early adolescent tobacco and alcohol use. *Personality and Individual Differences* 32, 95–105.
331. Trinidad, D. R., Unger, J. B., Chou, C. P., Azen, S. P. & Johnson, C. A. (2004) Emotional Intelligence and smoking risk factors in adolescents: interactions on smoking intentions. *Journal of Adolescent Health* 34, 46–55.
332. Gamboa AB, Hughes FJ, Marcenes W. The relationship between emotional intelligence and initial response to a standardized periodontal treatment: a pilot study. *J Clin Periodontol*. 2005 Jul;32(7):702-7. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00771.x. PMID: 15966874.
333. Boström L, Linder LE, Bergström J. Smoking and GCF levels of IL-1beta and IL-1ra in periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2000 Apr;27(4):250-5. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027004250.x. PMID: 10783838.
334. Özçaka O, Bıçakçı N, Pussinen P, Sorsa T, Köse T, Buduneli N. Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. *Oral Dis*. 2011 Jan;17(1):68-76. doi: 10.1111/j.1601-0825.2010.01705.x. PMID: 20646231.
335. Kanmaz B, Lamont G, Danacı G, Gogeneni H, Buduneli N, Scott D. Microbiological and biochemical findings in relation with clinical periodontal status in active smokers, non-smokers and passive smokers. *Tobacco Induced Diseases*. 2019 Mar 21; 17:20. doi:10.18332/tid/104492. PMID: 31582931.
336. Özçaka O, Nalbantsoy A, Köse T, Buduneli N. Plasma osteoprotegerin levels are decreased in smoker chronic periodontitis patients. *Aust Dent J*. 2010 Dec;55(4):405-10. doi: 10.1111/j.1834-7819.2010.01261.x. PMID: 21133939.
337. Society for Adolescent Health and Medicine. Young Adult Health and Well-Being: A Position Statement of the Society for Adolescent Health and Medicine. *J Adolesc Health*. 2017 Jun;60(6):758-759. doi: 10.1016/j.jadohealth.2017.03.021. PMID: 28532650.

338. Wu Y, Dong G, Xiao W, Xiao E, Miao F, Syverson A, Missaghian N, Vafa R, Cabrera-Ortega AA, Rossa C Jr, Graves DT. Effect of Aging on Periodontal Inflammation, Microbial Colonization, and Disease Susceptibility. *J Dent Res*. 2016 Apr;95(4):460-6. doi: 10.1177/0022034515625962. Epub 2016 Jan 13. PMID: 26762510; PMCID: PMC4802783.
339. Javed F, Abduljabbar T, Vohra F, Malmstrom H, Rahman I, Romanos GE. Comparison of Periodontal Parameters and Self-Perceived Oral Symptoms Among Cigarette Smokers, Individuals Vaping Electronic Cigarettes, and Never-Smokers. *J Periodontol*. 2017 Oct;88(10):1059-1065. doi: 10.1902/jop.2017.170197. Epub 2017 Jun 23. PMID: 28644108.
340. Williams CH. Some newer periodontal findings of practical importance to the general practitioner. *J Can Dent Assoc*. 1936;2:333–40
341. Loe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J Periodontol*. 1967 Nov-Dec;38(6):Suppl:610-6. doi: 10.1902/jop.1967.38.6.610. PMID: 5237684.
342. Silva-Boghossian CM, Luiz RR, Colombo AP. Periodontal status, sociodemographic, and behavioral indicators in subjects attending a public dental school in Brazil: analysis of clinical attachment loss. *J Periodontol*. 2009 Dec;80(12):1945-54. doi: 10.1902/jop.2009.090242. PMID: 19961378.
343. WHO Expert Committee on Dental Health;World Health Organization. Standardization of reporting of dental diseases and conditions: report of an expert committee on dental health. Geneva: World Health Organization; 1962.
344. Ozkavaf A, Aras H, Huri CB, Mottaghian-Dini F, Tözüm TF, Etikan I, Yamalik N, Caglayan F. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *J Oral Sci*. 2000 Dec;42(4):231-8. doi: 10.2334/josnurd.42.231. PMID: 11269382.
345. Arias-Bujanda N, Regueira-Iglesias A, et al. Cytokine Thresholds in Gingival Crevicular Fluid with Potential Diagnosis of Chronic Periodontitis Differentiating by Smoking Status. *Sci Rep* 8, 18003 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35920-4>.
346. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000. 2003;31:32-42. doi: 10.1034/j.1600-0757.2003.03103.x. PMID: 12656994.

347. Yılmaz Şaştım Ç, Gürsoy M, Könönen E, Kasurinen A, Norvio S, Gürsoy UK, Doğan B. Salivary and serum markers of angiogenesis in periodontitis in relation to smoking. *Clin Oral Investig*. 2021 Mar;25(3):1117-1126. doi: 10.1007/s00784-020-03411-4. Epub 2020 Jul 8. PMID: 32643086.
348. Türkoğlu O, Eren G, Emingil G, Azarsız E, Kutukculer N, Atilla G. Does smoking affect gingival crevicular fluid LL-37 levels following non-surgical periodontal treatment in chronic periodontitis? *Arch Oral Biol*. 2016 Jan;61:98-105. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.10.018. Epub 2015 Oct 27. PMID: 26547698.
349. Eren G, Türkoğlu HO, Atmaca H, Atilla FG. Evaluation of GCF MMP-1, MMP-8, TGF- β 1, PDGF-AB, and VEGF levels in periodontally healthy smokers. *Turk J Med Sci*. 2015;45(4):850-6. PMID: 26422857.
350. Karsiyaka Hendek M, Kisa U, Olgun E. The effect of smoking on gingival crevicular fluid peptidoglycan recognition protein-1 level following initial periodontal therapy in chronic periodontitis. *Oral Dis*. 2020 Jan;26(1):166-172. doi: 10.1111/odi.13207. Epub 2019 Oct 21. PMID: 31587460.
351. Wolff LF, Koller NJ, Smith QT, Mathur A, Aepli D. Subgingival temperature: relation to gingival crevicular fluid enzymes, cytokines, and subgingival plaque micro-organisms. *J Clin Periodontol*. 1997 Dec;24(12):900-6. doi: 10.1111/j.1600-051x.1997.tb01209.x. PMID: 9442427.
352. Boutros SM, Michalowicz BS, Smith QT, Aepli DM. Crevicular fluid enzymes from endosseous dental implants and natural teeth. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996 May-Jun;11(3):322-30. PMID: 8752553.
353. Baliban RC, Sakellari D, Li Z, DiMaggio PD, Floudas CA. Novel protein identification methods for biomarker discovery via a proteomic analysis of periodontally healthy and diseased gingival crevicular fluid samples. *Journal of Clinical Periodontology*. 2012a;39:203–212.
354. Ngo LH, Veith PD, Chen Y-Y, Chen D, Cardy IB, Reynolds EC. Mass Spectrometric Analyses of Peptides and Proteins in Human Gingival Crevicular Fluid. *Journal of Proteome Research*. 2010;9:1683–1693.
355. Rody WJ Jr, Wijegunasinghe M, Wiltshire WA, Dufault B. Differences in the gingival crevicular fluid composition between adults and adolescents undergoing orthodontic treatment. *Angle Orthod*. 2014 Jan;84(1):120-6. doi: 10.2319/012813-85.1. Epub 2013 May 21. PMID: 23687969.

356. Carneiro LG, Venuleo C, Oppenheim FG, Salih E. Proteome data set of human gingival crevicular fluid from healthy periodontium sites by multidimensional protein separation and mass spectrometry. *J Periodontal Res.* 2012;47:248–262.
357. Hendek MK, Erdemir EO, Kisa U, Ozcan G. Effect of initial periodontal therapy on oxidative stress markers in gingival crevicular fluid, saliva, and serum in smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2015 Feb;86(2):273-82. doi: 10.1902/jop.2014.140338. Epub 2014 Oct 17. PMID: 25325515.
358. Silva-Boghossian CM, Colombo AP, Tanaka M, Rayo C, Xiao Y, Siqueira WL. Quantitative proteomic analysis of gingival crevicular fluid in different periodontal conditions. *PLoS One.* 2013 Oct 1;8(10):e75898. doi: 10.1371/journal.pone.0075898. PMID: 24098404; PMCID: PMC3787961.
359. Carneiro LG, Nouh H, Salih E. Quantitative gingival crevicular fluid proteome in health and periodontal disease using stable isotope chemistries and mass spectrometry. *J Clin Periodontol.* 2014;41(8):733-747. doi:10.1111/jcpe.12262
360. Huynh A.H.S., Veith P.D., McGregor N.R., Adams G.G., Chen D., Reynolds E.C., Ngo L.H., Darby I.B. Gingival crevicular fluid proteomes in health, gingivitis and chronic periodontitis. *J. Periodontal Res.* 2015;50:637–649. doi: 10.1111/jre.12244.
361. Kinney JS, Morelli T, Oh M, Braun TM, Ramseier CA, Sugai JV, Giannobile WV. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. *J Clin Periodontol.* 2014 Feb;41(2):113-120. doi: 10.1111/jcpe.12194. Epub 2013 Dec 12. PMID: 24303954; PMCID: PMC4247885.
362. Boström L, Linder LE, Bergström J. Influence of smoking on the outcome of periodontal surgery. A 5-year follow-up. *J Clin Periodontol.* 1998 Mar;25(3):194-201. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02428.x. PMID: 9543189.
363. Sueda T, Bang J, Cimasoni G. Collection of gingival fluid for quantitative analysis. *J Dent Res.* 1969 Jan-Feb;48(1):159. doi: 10.1177/00220345690480011501. PMID: 5252093.
364. Valazza A, Matter J, Ogilvie A, Cimasoni G. Fluide gingival, inflammation gingivale, profondeur des poches et perte osseuse [Gingival fluid, gingival inflammation, pocket depth and bone loss]. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd.* 1972 Jul;82(7):824-32. French. PMID: 4558128.
365. Alavi AL, Palmer RM, Odell EW, Coward PY, Wilson RF. Elastase in gingival crevicular fluid from smokers and non-smokers with chronic inflammatory

- periodontal disease. *Oral Dis.* 1995 Sep;1(3):110-4. doi: 10.1111/j.1601-0825.1995.tb00173.x. PMID: 8705816.
366. Weinstein EM, I D, Salkind A, Oshrain HI, Pappas GD. Studies of Gingival Fluid. *Periodontics.* 1967;5:161–166.
 367. Zia A, Khan S, Bey A, Gupta ND, Mukhtar-Un-Nisar S. Oral biomarkers in the diagnosis and progression of periodontal diseases. *Biol & Med* 2011; 3(2):45-52.
 368. Buchmann R, Hasilik A, Nunn ME, Van Dyke TE, Lange DE. PMN responses in chronic periodontal disease: Evaluation by gingival crevicular fluid enzymes and elastase-alpha-1-proteinase inhibitor complex. *J Clin Periodontol.* 2002;29:563–72.
 369. De Genaro Modanese D, Tiosso-Tamburi R, Furletti de Goes VF, de Cássia Bergamaschi C, Martinez EF, Napimoga MH, Peruzzo DC. Clinical and Immunoinflammatory Evaluation of One-Stage Full-Mouth Ultrasonic Debridement as a Therapeutic Approach for Smokers With Generalized Aggressive Periodontitis: A Short-Term Follow-Up Study. *J Periodontol.* 2016 Sep;87(9):1012-21. doi: 10.1902/jop.2016.150632. Epub 2016 May 13. PMID: 27177288.
 370. Akalin FA, Toklu E, Renda N: Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Peridontol* 2005; 32: 238–243. doi: 10.1111/j.1600–051X.2005.00669.x.
 371. van der Velden U. Probing force and the relationship of the probe tip to the periodontal tissues. *J Clin Periodontol.* 1979 Apr;6(2):106-14. doi: 10.1111/j.1600-051x.1979.tb02189.x. PMID: 313406.
 372. Bartecchi CE, MacKenzie TD, Schrier RW. The human costs of tobacco use (1). *N Engl J Med.* 1994;330(13):907-12. doi: 10.1056/NEJM199403313301307. PMID: 8114863.
 373. Palmer RM. Tobacco smoking and oral health. *Br Dent J.* 1988 Apr 23;164(8):258-60. doi: 10.1038/sj.bdj.4806420. PMID: 3289594.
 374. Clarke NG, Carey SE. Etiology of chronic periodontal disease: an alternative perspective. *The Journal of the American Dental Association,* 1985; 110(5):689-691. doi:10.14219/jada.archive.1985.0398
 375. Arno A, Waerbaug J, Lovdal A, Shei O. Incidence of gingivitis as related to sex, occupation, tobacco consumption, toothbrushing and age. *Oral Surgery* 1958; 11: 587-595.

376. Alexander AG. The relationship between tobacco, smoking, calculus and plaque accumulation and gingivitis. 1970. *Dental Health* 9: 6-9.
377. Preber H, Kant T, Bergström J. Cigarette smoking, oral hygiene and periodontal health in Swedish army conscripts. *J Clin Periodontol*. 1980 Apr;7(2):106-13. doi: 10.1111/j.1600-051x.1980.tb01953.x. PMID: 6929791.
378. Preber H, Kant T. Effect of tobacco smoking on periodontal tissue of 15 year-old schoolchildren. 1973. *Journal of Periodontal Research* 8: 278-283. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1973.tb01116.x>
379. Modéer T, Lavstedt S, Ahlund C. Relation between tobacco consumption and oral health in Swedish schoolchildren. *Acta Odontol Scand*. 1980;38(4):223-7. doi: 10.3109/00016358009003493. PMID: 6937088.
380. Feldman RS, Bravacos JS, Rose CL. Association between smoking different tobacco products and periodontal disease indexes. *J Periodontol*. 1983 Aug;54(8):481-7. doi: 10.1902/jop.1983.54.8.481. PMID: 6578319.
381. Meekin TN, Wilson RF, Scott DA, Ide M, Palmer RM. Laser Doppler flowmeter measurement of relative gingival and forehead skin blood flow in light and heavy smokers during and after smoking. *J Clin Periodontol*. 2000 Apr;27(4):236-42. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027004236.x. PMID: 10783836.
382. Doll R, Peto R. Mortality in relation to smoking: 20 years' observation on male British doctors. *Br Med J* 1976;2:1525–36.
383. Gomes SC, Piccinin FB, Oppermann RV, Susin C, Marcantonio RA. The effect of smoking on gingival crevicular fluid volume during the treatment of gingivitis. *Acta Odontol Latinoam*. 2009;22(3):201-6. PMID: 20302219.
384. Mızrak T, Kaya FA. Sigara kullanımının periodontal dokular üzerine olan etkisi. *Dicle Tıp Derg* 2005;32:102-7.
385. Ayhan E, Dikilitaş A, Alkan Ö, Parlar A. Sigara ve periodontal hastalık ilişkisi. *Acta Odontol Turc*. 2013; 30(1): 49-53.
386. Lie MA, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA. Evaluation of 2 methods to assess gingival bleeding in smokers and non-smokers in natural and experimental gingivitis. *J Clin Periodontol*. 1998 Sep;25(9):695-700. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02509.x. PMID: 9763323.

387. MacGregor ID. Toothbrushing efficiency in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol*. 1984 May;11(5):313-20. doi: 10.1111/j.1600-051x.1984.tb01327.x. PMID: 6585370.
388. Sheiham A. Periodontal disease and oral cleanliness in tobacco smokers. *J Periodontol*. 1971 May;42(5):259-63. doi: 10.1902/jop.1971.42.5.259. PMID: 5280493.
389. Ismail AI, Burt BA, Eklund SA. Epidemiologic patterns of smoking and periodontal disease in the United States. *J Am Dent Assoc*. 1983 May;106(5):617-21. doi: 10.14219/jada.archive.1983.0137. PMID: 6575080.
390. Pindborg JJ. Tobacco and gingivitis: statistical examination of the significance of tobacco in the development of ulceromembranous gingivitis and in the formation of calculus. *J Dent Res*. 1947 Jun;26(3):261-4. doi: 10.1177/00220345470260030901. PMID: 20344436.
391. Rajala M, Honkala E, Rimpelä M, Lammi S. Toothbrushing in relation to other health habits in Finland. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1980 Dec;8(8):391-5. doi: 10.1111/j.1600-0528.1980.tb01316.x. PMID: 6942955.
392. Machuca G, Rosales I, Lacalle JR, Machuca C, Bullón P. Effect of cigarette smoking on periodontal status of healthy young adults. *J Periodontol*. 2000 Jan;71(1):73-8. doi: 10.1902/jop.2000.71.1.73. PMID: 10695941.
393. Chaffee BW, Persai D, Vora MV. Interdental Cleaning and Oral Health Status in an Adult Cohort, 2015 to 2018. *J Dent Res*. 2020 Sep;99(10):1150-1156. doi: 10.1177/0022034520926139. Epub 2020 May 28. PMID: 32464077; PMCID: PMC7443997.
394. Schenkein HA, Gunsolley JC, Koertge TE, Schenkein JG, Tew JG. Smoking and its effects on early-onset periodontitis. *J Am Dent Assoc*. 1995 Aug;126(8):1107-13. doi: 10.14219/jada.archive.1995.0327. PMID: 7560567.
395. Rüdín HJ, Overdiek HF, Rateitschak KH. Correlation between sulcus fluid rate and clinical and histological inflammation of the marginal gingiva. *Helv Odontol Acta*. 1970 Apr;14(1):21-6. PMID: 5438796.
396. Albandar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontol* 2000. 2002;29:7-10. doi: 10.1034/j.1600-0757.2002.290101.x. PMID: 12102700.

397. Arowojolu MO, Fawole OI, Dosumu EB, Opeodu OI. A comparative study of the oral hygiene status of smokers and non-smokers in Ibadan, Oyo state. *Niger Med J*. 2013 Jul;54(4):240-3. doi: 10.4103/0300-1652.119627. PMID: 24249949; PMCID: PMC3821224.
398. Ainamo J, Barmes D, Beagrie G, Cutress T, Martin J, Sardo-Infirri J. Development of the World Health Organization (WHO) community periodontal index of treatment needs (CPITN). *Int Dent J*. 1982 Sep;32(3):281-91. PMID: 6958657.
399. Doğanay S, Sözman K, Kalaça S, Ünal B. Türkiye’de toplumda sigara içme sıklığı nasıl değişiyor? *Türkiye Halk Sağlığı Dergisi* 2012;10(2):93-115.
400. Gautam DK, Jindal V, Gupta SC, Tuli A, Kotwal B, Thakur R. Effect of cigarette smoking on the periodontal health status: A comparative, cross sectional study. *J Indian Soc Periodontol*. 2011;15(4):383-387. doi:10.4103/0972-124X.92575
401. Löe H, Anerud A, Boisen H. The natural history of periodontal disease in man. Study design and baseline data. *J Periodont Res* 1978;13:550-62
402. Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol*. 1986 May;13(5):431-45. doi: 10.1111/j.1600-051x.1986.tb01487.x. PMID: 3487557.
403. Alpagot T, Wolff LF, Smith QT, Tran SD. Risk indicators for periodontal disease in a racially diverse urban population. *J Clin Periodontol*. 1996 Nov;23(11):982-8. doi: 10.1111/j.1600-051x.1996.tb00524.x. PMID: 8951624.
404. Mariggio MA, Guida L, Laforgia A, Santacroce R, Curci E, Montemurro P, Fumarulo R. Nicotine effects on polymorphonuclear cell apoptosis and lipopolysaccharide-induced monocyte functions. A possible role in periodontal disease? *J Periodontal Res*. 2001 Feb;36(1):32-9. doi: 10.1034/j.1600-0765.2001.00301.x. PMID: 11246702.
405. Güntsch A, Erler M, Preshaw PM, Sigusch BW, Klinger G, Glockmann E. Effect of smoking on crevicular polymorphonuclear neutrophil function in periodontally healthy subjects. *J Periodontal Res*. 2006 Jun;41(3):184-8. doi: 10.1111/j.1600-0765.2005.00852.x. PMID: 16677286.
406. Souto GR, Segundo TK, Costa FO, Aguiar MC, Mesquita RA. Effect of smoking on Langerhans and dendritic cells in patients with chronic gingivitis. *J Periodontol*.

- 2011 Apr;82(4):619-25. doi: 10.1902/jop.2010.100488. Epub 2010 Nov 8. PMID: 21054228.
407. Javed F, Al-Kheraif AA, Rahman I, Millan-Luongo LT, Feng C, Yunker M, Malmstrom H, Romanos GE. Comparison of Clinical and Radiographic Periodontal Status Between Habitual Water-Pipe Smokers and Cigarette Smokers. *J Periodontol*. 2016 Feb;87(2):142-7. doi: 10.1902/jop.2015.150235. Epub 2015 Oct 2. PMID: 26430928.
 408. Bjørnaas T, Rygh P, Bøe OE. Severe overjet and overbite reduced alveolar bone height in 19-year-old men. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1994 Aug;106(2):139-45. doi: 10.1016/S0889-5406(94)70031-1. PMID: 8059749.
 409. Gkantidis N, Christou P, Topouzelis N. The orthodontic-periodontic interrelationship in integrated treatment challenges: a systematic review. *J Oral Rehabil*. 2010 May 1;37(5):377-90. doi: 10.1111/j.1365-2842.2010.02068.x. Epub 2010 Feb 25. PMID: 20202098.
 410. Pini-Prato GP, Cozzani G, Magnani C, Baccetti T. Healing of gingival recession following orthodontic treatment: a 30-year case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2012 Feb;32(1):23-7. PMID: 22254220.
 411. Terézhalmy GT, Biesbrock AR, Walters PA, et al. Clinical evaluation of brushing time and plaque removal potential of two manual toothbrushes. *Int J Dent Hyg* 2008; 6:321–327.
 412. Bilgin E, et al. 2019. Evaluation of the relationship between gingival phenotype and alveolar bone morphology. *Mucosa*, 2(1);6-13.
 413. Al-Jasser, R. N. (2020). The effect of overbite and overjet on clinical parameters of periodontal disease: A case control study. *The Saudi Dental Journal*. doi:10.1016/j.sdentj.2020.02.002
 414. Müller HP, Heinecke A, Schaller N, Eger T. Masticatory mucosa in subjects with different periodontal phenotypes. *J Clin Periodontol*. 2000 Sep;27(9):621-6. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027009621.x. PMID: 10983595.
 415. Cuny-Houchmand M, Renaudin S, Leroul M, Planche L, et al. Gingival biotype assessment: visual inspection relevance and maxillary versus mandibular comparison. *Open Dent J*. 2013;7:1-6. doi:10.2174/1874210601307010001.
 416. Múfalo PS, Kaizer Rde O, Dalben Gda S, de Almeida AL. Comparison of periodontal parameters in individuals with syndromic craniosynostosis. *J Appl Oral*

- Sci. 2009 Jan-Feb;17(1):13-20. doi: 10.1590/s1678-77572009000100004. PMID: 19148400; PMCID: PMC4327608.
417. Rai B, Kaur J, Anand SC, Laller K. The effect of smoking on gingival crevicular fluid levels of myeloperoxidase. *Indian J Dent Res.* 2010 Jan-Mar;21(1):20-2. doi: 10.4103/0970-9290.62803. PMID: 20427901.
 418. Cao CF, Smith QT. Crevicular fluid myeloperoxidase at healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J Clin Periodontol.* 1989 Jan;16(1):17-20. doi: 10.1111/j.1600-051x.1989.tb01606.x. PMID: 2536761.
 419. Ortiz GC, Rahemtulla B, Tsurudome SA, Chaves E, Rahemtulla F. Quantification of human myeloperoxidase in oral fluids. *Eur J Oral Sci.* 1997 Apr;105(2):143-52. doi: 10.1111/j.1600-0722.1997.tb00193.x. PMID: 9151067.
 420. Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res.* 2003 Feb;82(2):82-90. doi: 10.1177/154405910308200202. PMID: 12562878.
 421. Smith QT, Hinrichs JE, Melnyk RS. Gingival crevicular fluid myeloperoxidase at periodontitis sites. *J Periodontal Res.* 1986 Jan;21(1):45-55. doi: 10.1111/j.1600-0765.1986.tb01437.x. PMID: 3007721.
 422. Mullally BH. The influence of tobacco smoking on the onset of periodontitis in young persons. *Tob Induc Dis.* 2004;2(2):53-65. Published 2004 Jun 15. doi:10.1186/1617-9625-2-2-53.
 423. Andelid K, Bake B, Rak S, Linden A, Rosengren A, Ekberg-Jansson A. Myeloperoxidase as a marker of increasing systemic inflammation in smokers without severe airway symptoms. *Respir Med.* 2007; 101(5):888-95.
 424. Buduneli N, Kardeşler L, Işık H, Willis CS 3rd, Hawkins SI, Kinane DF, Scott DA. Effects of smoking and gingival inflammation on salivary antioxidant capacity. *J Clin Periodontol.* 2006 Mar;33(3):159-64. doi: 10.1111/j.1600-051X.2006.00892.x. PMID: 16489940.
 425. Liskmann S, Zilmer M, Vihalemm T, Salum O, Fischer K. Correlation of peri-implant health and myeloperoxidase levels: a cross-sectional clinical study. *Clin Oral Implants Res.* 2004 Oct;15(5):546-52. doi: 10.1111/j.1600-0501.2004.01061.x. PMID: 15355396.
 426. Yamalik N, Çağlayan F, Kiliñç K, Kiliñç A, Tümer C. The importance of data presentation regarding gingival crevicular fluid myeloperoxidase and elastase-like

- activity in periodontal disease and health status. *J Periodontol.* 2000 Mar;71(3):460-7. doi: 10.1902/jop.2000.71.3.460. PMID: 10776935.
427. Kowolik MJ, Grant M. Myeloperoxidase activity in human gingival crevicular neutrophils. *Arch Oral Biol.* 1983;28(4):293-5. doi: 10.1016/0003-9969(83)90070-5. PMID: 6309123.
 428. Lamster IB, Oshrain RL, Gordon JM. Enzyme activity in human gingival crevicular fluid: considerations in data reporting based on analysis of individual crevicular sites. *J Clin Periodontol.* 1986 Sep;13(8):799-804. doi: 10.1111/j.1600-051x.1986.tb00885.x. PMID: 3534004.
 429. Lamster IB, Harper DS, Goldstein S, Celenti RS, Oshrain RL. The effect of sequential sampling on crevicular fluid volume and enzyme activity. *J Clin Periodontol.* 1989 Apr;16(4):252-8. doi: 10.1111/j.1600-051x.1989.tb01650.x. PMID: 2654198.
 430. Lamster IB, Vogel RI, Hartley LJ, DeGeorge CA, Gordon JM. Lactate dehydrogenase, beta-glucuronidase and arylsulfatase activity in gingival crevicular fluid associated with experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1985 Mar;56(3):139-47. doi: 10.1902/jop.1985.56.3.139. PMID: 3886871.
 431. Curtis MA, Griffiths GS, Price SJ, Coulthurst SK, Johnson NW. The total protein concentration of gingival crevicular fluid. Variation with sampling time and gingival inflammation. *J Clin Periodontol.* 1988 Nov;15(10):628-32. doi: 10.1111/j.1600-051x.1988.tb02263.x. PMID: 3058753.
 432. Podhradský J, Jány Z, Velgos Š. Beta-glucuronidase activity in human gingiva in health and periodontal disease. *Arch Oral Biol.* 1982;27(7):615-616. doi:10.1016/0003-9969(82)90079-6.
 433. Lamster IB, Kaufman E, Grbic JT, Winston LJ, Singer RE. Beta-glucuronidase activity in saliva: relationship to clinical periodontal parameters. *J Periodontol.* 2003 Mar;74(3):353-9. doi: 10.1902/jop.2003.74.3.353. PMID: 12710755.
 434. Sanara PP, Shereef M, Hegde S, Rajesh KS, Arun Kumar MS, Mohamed S. Comparative analysis of gingival crevicular fluid β -glucuronidase levels in health, chronic gingivitis and chronic periodontitis. *J Pharm Bioallied Sci.* 2015;7(Suppl 2):S660-S665. doi:10.4103/0975-7406.163596

435. Nakamura M, Slots J. Salivary enzymes. Origin and relationship to periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1983 Nov;18(6):559-69. doi: 10.1111/j.1600-0765.1983.tb00393.x. PMID: 6230429.
436. Belaaouaj A, McCarthy R, Baumann M, et al. Mice lacking neutrophil elastase reveal impaired host defense against gram negative bacterial sepsis. 1998. *Nat Med* 4, 615–618. <https://doi.org/10.1038/nm0598-615>
437. Tkalcevic J, Novelli M, Phylactides M, Iredale JP, Segal AW, Roes J. Impaired immunity and enhanced resistance to endotoxin in the absence of neutrophil elastase and cathepsin G. *Immunity.* 2000 Feb;12(2):201-10. doi: 10.1016/s1074-7613(00)80173-9. PMID: 10714686.
438. Ujiie Y, Oida S, Gomi K, Arai T, Fukae M. Neutrophil elastase is involved in the initial destruction of human periodontal ligament. *J Periodontal Res.* 2007 Aug;42(4):325-30. doi: 10.1111/j.1600-0765.2006.00952.x. PMID: 17559629.
439. Giannopoulou C, Andersen E, Demeurisse C, Cimasoni G. Neutrophil elastase and its inhibitors in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J Dent Res.* 1992 Feb;71(2):359-63. doi: 10.1177/00220345920710020301. PMID: 1372921.
440. Pauletto NC, Liede K, Nieminen A, Larjava H, Uitto VJ. Effect of cigarette smoking on oral elastase activity in adult periodontitis patients. *J Periodontol.* 2000 Jan;71(1):58-62. doi: 10.1902/jop.2000.71.1.58. PMID: 10695939.

FORMLAR

Form 1: Gönüllü Olur Formu

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU METNİNDE BULUNMASI GEREKENLER

“Bu gereklilikleri yerine getirirken, araştırmanın amacı ve yöntemine göre gönüllü olur formunun gerektiğinde hastaların yanı sıra çocuklar, kısıtlılar ve bilinci kapalı bireyler gibi onam yeteneği olmayan ya da kısıtlı olanlar, hasta yakınları, ve sağlıklı kişiler için ayrı ayrı ve dili tıbbi kelimelerden arındırılarak, katılımcıların anlayabileceği şekilde hazırlanmasına özen gösterilmelidir”

I-Araştırmayla İlgili Bilgi Verilmesi ;(bu bölüm hastanın anlayabileceği bir dille tıbbi terimlerden kaçınarak yazılmalıdır)

- Adı: Sigara İçen Gingivitis Hastalarının Klinik Ölçümlerinin ve Diş Eti Oluğu Sıvısındaki Nötrofil Enzimi Seviyelerinin Sigara İçmeyen Gingivitis Hastalarıyla Karşılaştırılarak İncelenmesi
- Ne tür bir araştırma olduğu: Vaka-Kontrol Araştırmaları
- Amacı: Sigara içen gingivitisli bireylerin klinik ölçümlerinin ve diş eti oluğu sıvısındaki nötrofil enzimlerinden myeloperoksidaz, nötrofil elastaz ve beta-glukuronidaz seviyelerinin, sigara içmeyen gingivitisli bireylerle karşılaştırarak değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.
- Kişisel bilgilerinizi, sigara tüketme durumuzu ve miktarını, diş hekimine gitme sıklığınızı, diş fırçalama alışkanlığınızı ve olumsuz alışkanlıklarınızı sorduktan sonra genel sağlığınız hakkında ve diş etlerinizin sağlık durumunu ölçmek üzere size bazı sorular soracağız. Daha sonra diş eti sağlığınızı tespiti için ağız içi ölçümler yapacağız.
- Diş etlerinize periopaper dediğimiz kağıtlardan koyup diş eti oluğu sıvısı ölçümü yapacağız.
- Araştırmaya davet edilmenizin nedeni 18-25 yaş aralığında olup diş eti iltihabı tanısının konulmuş olmasıdır. İstanbul Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalı bu hastalığın sigara kullanımından nasıl etkilendiğini inceleyen bir araştırma gerçekleştirecektir. Kendinizde bir şikayet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.
- Tanımlanmış herhangi bir zarar veya risk bulunmamaktadır.
- Araştırma sayesinde sigaranın diş etine verdiği zararların kanıta dayalı olarak açıklanabilmesi, sigara içen hastalarda diş eti oluğu sıvısındaki iltihapsal süreçlerin anlaşılmasına ışık tutulması, sigaranın diş eti iltihabı üzerine etkilerinin anlaşılması, sigaranın bağışıklık sistemi ve bu sistemin elemanları üzerine etkilerinin anlaşılması, hastaların sigaranın zararları konusunda bilinçlendirilmesi ve ağız bakımı açısından bilinçlendirilmesi beklenmektedir. Elde edilen verilerin bu konuda yetersiz sayıda olan çalışmaya ve bilimsel birikime katkı sağlaması hedeflenmektedir.
- Araştırmanın süresi 12 ay (1 yıl) dır
- Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı 60 (altmış) tır.

II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgi Verilmesi

- Araştırma yöntemi dışında herhangi bir alternatif tedavi yapılmayacaktır.
- Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar verirsiniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden destekleyici/araştırmacı sorumludur.
- Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için

size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

- Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dt. Rümeysa CİHANGİR veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından genel muayeneniz ve ağız içi muayeneniz yapılacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp/diş hekimliği öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

(Bu bölüm hazırlanan gönüllü olur formunun sonuna eklenmelidir)

Dt. Rümeysa CİHANGİR tarafından İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dt. Rümeysa CİHANGİR'i +90***** numarasından veya İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı +90 212 414 20 20 (Dahili: *****) numarasından arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

**Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının
Adı-soyadı/ İmzası/ Tarih**

**Gerekliyse olur işlemine tanık olan kişinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi
(varsa telefon no., faks no,...)**

**Gerekliyse yasal temsilcisinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon
no., faks no,...)**

Form 2: Hasta Takip Formu

Hasta Takip Formu

Hasta Grubu:

Tarih:

Dahil Edilme Soruları

- Ciddi bir hastalığınız var mı?
Önemli bir ameliyat geçirdiniz mi?
Sürekli kullandığınız bir ilaç var mı?

İletişim Bilgileri:

İsim-Soyisim:

T.C kimlik no:

Adres:

Telefon:

Demografik Veriler

Yaş:

Boy:

Kilo:

Vücut Kitle İndeksi:

Eğitim Düzeyi:

O İlköğretim O Lise
O Üniversite/Lisansüstü

Gelir Düzeyi (2011 yılı kişi başı GSMH aylık ortalaması standart
alınarak):

O 0-3000 TL
O 3000 üzeri TL

Sağlık Güvencesi:

O Var O Yok

Çocuk Sayısı:

Evlilik durumu:

O Bekar O Evli
O Boşanmış O Dul

Tıbbi Anamnez

Sistemik hastalıklar:

Kardiyovasküler hastalıklar:

Endokrin hastalıklar:

Hematolojik hastalıklar:

Solunum hastalıkları:

Diğer:

Son 5 yıl içinde geçirilen operasyon:

Sistemik ilaç kullanımı:

Sigara kullanımı:

.....yıldır kullanıyor

O Bırakmış

O Kullanmıyor

Toplam sigara tüketimi:

.....adet/gün

Dental Anamnez:

Diş fırçalama:

O Yok

O Günde 1

O Günde 2

Arayüz bakımı:

O Var

O Yok

Arayüz temizlik ajanı:

O Kürdan

O Diş ipi

O Arayüz fırçası

Diş hekimine gitme sıklığı:

En son ne zaman diş taşı temizliği yaptırdınız?:

Form 3: Klinik Ölçüm Formu

İÜ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI	
ÖLÇÜM FORMU	
Araştırmacı: Dok. Öğr. Rümeysa CİHANGİR	Danışman: Prof. Dr. Funda YALÇIN
Hasta Adı-Soyadı: Tarih:	Grup: No:

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

SİGARA İÇEN GİNGİVİTİS HASTALARININ KLİNİK
ÖLÇÜMLERİNİN VE DİŞ ETİ OLUĞU SIVISINDAKİ NÖTROFİL
ENZİMİ SEVİYELERİNİN SİGARA İÇMEYEN GİNGİVİTİS
HASTALARIYLA KIYASLANARAK İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 12	% 11	% 5	% 6
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisim.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	% 2
2	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 2
3	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 2
4	Helms, Kristina. "Migration Inhibitory Factor und Prostaglandin E2 bei experimenteller Gingivitis in verschiedenen Altersgruppen", Philipps-Universität Marburg, 2008. Yayın	% 1
5	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
6	acikerisim.isikun.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<% 1