



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOĞİ ANABİLİM DALI

**SİGARANIN PERİODONTİTİS KOŞULLARINDA
PERİODONTAL DOKULARIN DAMARLANMA
DÖNGÜLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Bengi KURT AYDIN

**Samsun
Ekim-2017**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOĞİ ANABİLİM DALI

**SİGARANIN PERİODONTİTİS KOŞULLARINDA
PERİODONTAL DOKULARIN DAMARLANMA
DÖNGÜLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Bengi KURT AYDIN

Prof. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU

**Samsun
Ekim-2017**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bengi KURT AYDIN tarafından Prof. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU danışmanlığında hazırlanan 'Sigaranın Periodontitis Koşullarında Periodontal Dokuların Damarlanma Döngüleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi' başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 27/10/2017 tarihinde yapılan sınav ile Periodontoloji Anabilim Dalında UZMANLIK Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Müge LÜTFİOĞLU, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Murat İnanç CENGİZ, Bülent Ecevit Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Periodontoloji Anabilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /.....

Prof. Dr. Selim ARICI
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecince bana iyi hekim olma yolunu gösteren, mesleğimi icra etmem için engin bilgi ve tecrübesi ile bana her zaman yol gösteren, her konuda desteğini gördüğüm tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU'na,

Uzmanlık eğitimim boyunca desteğini her zaman hissettiğim, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, bizlere ihtiyaç duyduğumuz eğitim ve çalışma ortamını sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Umur SAKALLIOĞLU'na ve tüm Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine,

Tezimin biyokimyasal labaratuvar aşamalarının gerçekleştirilmesinde bilgi, beceri ve deneyimlerini hiç esirgemedi paylaşan ve sabırla yardımcı olan sayın hocam Doç. Dr. Bahattin AVCI'ya ve Biyokimya Anabilim Dalı Labaratuvarı çalışanlarına,

Uzmanlık tezime olan katkılarından dolayı Dr. Ahmet AYDOĞDU'ya,

Çalıştığım yıllar boyunca her zaman yanımda olan, birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım Periodontoloji Anabilim Dalı asistan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca beni her alanda maddi ve manevi olarak destekleyen, bugünlere gelmemi sağlayan, her zaman varlıklarını yanımda hissettiğim canım aileme,

Her zaman olduğu gibi uzmanlık eğitimim esnasında da benden sevgi ve desteğini esirgemeyen biricik eşim Dt. İshak AYDIN'a,

Sonsuz teşekkürler...

Bu çalışma, PYO.DIS.1904.17.008 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

SİGARANIN PERİODONTİTİS KOŞULLARINDA PERİODONTAL DOKULARIN DAMARLANMA DÖNGÜLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Bu çalışmada sigaranın, periodontal dokulardaki enflamatuvar olaylar sürecinde önemli rolü olan damarlanma döngülerine olan etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot: Çalışmamıza 15'i sigara içen, 15'i sigara içmeyen 30 adet periodontal olarak sağlıklı ve 15'i sigara içen, 15'i sigara içmeyen 30 adet generalize kronik periodontitisli hasta dahil edilerek 4 çalışma grubu oluşturuldu. Periodontal olarak sağlıklı hastaların herhangi 2 dişinden, generalize kronik periodontitisli hastaların ise en derin sondalanabilir cep derinliği (SCD) değerine sahip 2 dişinden dişeti oluşu sıvısı (DOS) örnekleri toplandı. Gruplar arası değerlendirmede plak indeksi (Pİ), gingival indeks (Gİ), sondalanabilir cep derinliği (SCD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) klinik parametreler olarak; dişeti oluşu sıvısı hacmi (DOSh), DOS Angiogenin (ANG) ve DOS VE-cadherin (VE-Cad) düzeyleri biyokimyasal parametreler olarak kullanıldı.

Bulgular: Klinik parametreler incelendiğinde en yüksek Pİ değeri sigara içen periodontitisli grupta, en yüksek Gİ değeri sigara içmeyen periodontitisli grupta elde edildi. Kronik periodontitisli hasta grupları kıyaslandığında SCD ve KAS parametreleri arasında anlamlı farka rastlanmadı. DOS ANG seviyeleri değerlendirildiğinde sigara içen periodontitisli grupta en yüksek olduğu görüldü. Sigara içmeyen periodontitisli grup istatistiksel olarak anlamlı bir farkla sigara içen periodontitisli gruptan daha düşük, sağlıklı gruplardan daha yüksek elde edildi. DOS VE-cad değerleri periodontitisli gruplarda sağlıklı gruplardan yüksek elde edildi.

Sonuç: Bulgularımız, sigaranın periodontitis koşullarında periodontal dokulardaki damarlanma döngülerini olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir. Periodontal dokular sağlıklı durumdayken ise damarlanma döngülerini değerlendirmek amacıyla bakılan belirteçlerde bir sigara etkisi ile oluşan bir fark gözlenememiştir.

Anahtar Kelimeler: Sigara; Kronik periodontitis; Angiogenin; VE-cadherin; Anjiyogenezis

Bengi Kurt Aydın, Uzmanlık Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, Ekim-2017

ABSTRACT

THE EFFECT OF SMOKING IN VASCULAR CIRCULATION OF PERIODONTAL TISSUES IN PERIODONTITIS

Aim: This study aimed to evaluate the effect of smoking in vascular circulation which has a significant role in inflammatory process of periodontal tissues.

Material and Method: We included 30 generalized chronic periodontitis patients, 15 of which were non-smoking, 15 were non-smoking, 30 were periodontally healthy, 15 were non-smoking and 15 were non-smoking. Gingival crevicular fluid samples were collected from any 2 teeth of periodontally healthy patients and 2 teeth with the deepest probe depth value from patients who have chronic periodontitis. Plaque index, gingival index, probable pocket depth and clinical attachment level were evaluated as clinical parameters between the groups, gingival fluid volume, DOS angiogenin (ANG) and DOS VE-cadherin (VE-Cad) levels were used as biochemical parameters.

Results: When the clinical parameters were examined, the highest plaque index value was obtained in the periodontitis group with smoking, the highest gingival index value was obtained in the non-smoking periodontitis group. When the groups of chronic periodontitis patients were compared, no significant difference was found between probable pocket depth and clinical attachment level parameters. When DOS ANG levels were evaluated, it was seen that smoking periodontitis group was the highest. The non-smoking periodontitis group was statistically significantly lower than the smoking periodontitis group and higher than the smoking and non-smoking healthy groups. DOS VE-cad values were higher in the periodontitis groups than in the healthy groups.

Conclusions: Our findings have shown that cigarette smoking adversely affects the vascular cycles in periodontal tissues in periodontitis conditions. When the periodontal tissues were in a healthy state, no difference was observed in the markers observed for evaluating the vascular cycles with a smoking effect.

Keywords: Smoking; Chronic periodontitis; Angiogenin; VE-Cadherin; Angiogenesis

Bengi KURT AYDIN, Master Thesis

Ondokuz Mayıs University-Samsun, October-2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

ANG	: Angiogenin
DOS	: Dişeti Oluğu Sıvısı
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (Enzime Bağlı İmmunosorban Yöntem)
Gİ	: Gingival İndeks
ICAM	: İntrasellüler Adezyon Molekülü
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmunoglobulin
IL	: İnterlökin
KAS	: Klinik Ataşman Seviyesi
KP	: Kronik Periodontitis
MIP	: Makrofaj Enflamatuvar Protein
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
PBS	: Fosfatla Tamponlanmış Salin
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
Pİ	: Plak İndeksi
SCD	: Sondalanabilir Cep Derinliği
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
VE-Cad	: Vasküler Endotelyal Cadherin
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periodontal Hastalık.....	4
2.1.1. Kronik Periodontitis.....	4
2.1.2. Klinik Özellikler.....	5
2.1.3. Periodontitis Etyopatogenezi.....	6
2.1.4. Periodontal Hastalıkta Risk Faktörleri.....	12
2.2. Sigara	13
2.3. Sigara ve Periodontal Hastalık.....	13
2.3.1. Sigara ve Periodontal Patogenez.....	16
2.4. Dişeti Oluğu Sıvısı.....	19
2.5. Anjiyogenezis	20
2.5.1. Periodontal Dokuların Anjiyogenezisi.....	21
2.5.2. Angiogenin.....	22
2.5.3. VE Cadherin.....	23
3. MATERYAL METOT	26
3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	26
3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri.....	26
3.3. Klinik Değerlendirme.....	26
3.4. Çalışma Grupları.....	29
3.5. DOS Örneklerinin Toplanması.....	30
3.6. Kağıt Şeritlerden DOS İzolasyonu.....	31
3.7. Biyokimyasal Değerlendirme.....	32
3.7.1. İnsan VE-Cad Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi.....	33
3.7.2. İnsan ANG Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi.....	34
3.8. İstatistiksel Değerlendirme.....	35
4. BULGULAR	37

4.1. Klinik Bulgular.....	37
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	42
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
KAYNAKLAR.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	76



1.GİRİŞ

Periodontitis; klinik olarak periodontal cep ve dişeti çekilmesi oluşumu ile karakterize, periodontal membran ve alveol kemiğinin progresif yıkımına öncülük eden spesifik mikroorganizmaların sebep olduğu, diş destek dokularının enflamatuvar bir hastalığıdır (Genco ve Borgnakke, 2013). Kronik periodontitis (KP), periodontitisin en sık rastlanan tipidir (Flemming, 1999). Genel olarak yavaş ilerleyen bir hastalık olarak kabul edilir fakat plak birikimine karşı konak cevabını değiştiren diabet, sigara kullanımı ya da stres gibi sistemik veya çevresel faktörlerin varlığında hastalığın ilerleyişi daha agresif olabilmektedir (Novak ve Novak, 2012).

Sigara kullanımı, KP gelişimi ve ilerlemesinde ana risk faktörlerinden biridir (Haber ve Kent, 1992; Tomar ve Asma, 2000). Sigara kullanan bireylerde periodontitisin daha şiddetli olduğu rapor edilmiştir (Genco, 1996). Sigara ile ilişkili periodontal yıkımın patogenezi mikrobiyal floradaki değişim ile birlikte bozulan lokal konak cevabına dayandırılmaktadır (Kinane ve Chestnutt, 2000; Rivera-Hildago, 2003). Sigara kullanan bireylerde bakteriyel plağa karşı oluşan konak yanıtı azalır, çünkü sigara nötrofil fonksiyonunu değiştirerek, antikor üretimini ve fibroblast aktivitelerini azaltarak, vasküler faktörleri değiştirerek ve enflamatuvar mediatörlerin üretimini arttırarak konak yanıtına zarar verir (Johnson ve Guthmiller, 2007).

Anjiyogenezis çevrede önceden var olan damarlarda mevcut olan endotel hücrelerinin tomurcuklanması ile yeni kan damarlarının oluştuğu bir süreçtir ve kronik enflamatuvar hastalık gelişiminde önemli bir aşamadır (Güneri ve ark., 2004). Proenflamatuvar hücreleri lezyona taşımak için yeni kan damarlarının oluşmasını sağlayan anjiyogenezis mekanizması, enflame dokulara oksijen ve besinleri sağlaması sonucu enflamasyonun şiddetine katkıda bulunur. Yeni kan damarlarının şekillenmesi ile artan endotelyal yüzeyler ise, sitokinler, adhezyon molekülleri ve enflamasyon için gerekli diğer faktörlerin üretimi için potansiyel substratları arttırır (Johnson ve ark., 1999).

Enflamasyon varlığında periodonsiyumun kan damarlarında yapısal ve fonksiyonel değişiklikler oluşur. Yeni damar oluşumu ve vasküler olaylar hem patojenik mekanizmalar hem de enflamasyonun çözülmesi ve iyileşmenin düzenlenmesi için kritiktir (Hock ve Nuki, 1978; Sakallıoğlu ve ark., 2006). Sigara kullanımı periodontal vaskülarizasyon mekanizmaları üzerinde önemli etkilere sahiptir (Bergström ve ark.,

1988; Rezavandi ve ark., 2002). Sigarayla ilişkili hastalıklarla ilgili en önemli bulgu; endotel hasarına sebep olan endotelial disfonksiyonun varlığıdır (Koide ve ark., 2005; Michaud ve ark., 2006; Lu ve ark., 2011; Schweitzer ve ark., 2011). Sigara kullanımı damar sağlığına zarar verebilir ve dişetindeki vazokonstrüksiyonu indükleyebilir (Mavropoulos ve ark., 2003), dişeti kan akımı oranını azaltabilir (Morozumi ve ark., 2004; Mavropoulos ve ark., 2007), tekrarlayan vazokonstrüksiyonlar nedeni ile immun cevabın bozulmasına katkıda bulunabilir (Morozumi ve ark., 2004). Periodontal dokularda sigaranın en önemli bileşenlerinden olan nikotinin vazokonstrüktör etkisinden dolayı lokal olarak dişetindeki kan akımında yavaşlama olur. Bunun sonucunda dişeti iltihabı, kızarıklık ve kanamanın azalması ile periodontal problemlerin erken belirtileri baskılanır (Turnbull, 1995).

Angiogenezin güçlü uyarılarından biri olan Angiogenin(ANG), yara neovaskülarizasyonuna katılır, hücre çoğalmasını uyarır (Hu ve ark., 1997), hücre bağımlı proteazları aktive eder (Hu ve Riordan, 1993), hücre migrasyonunu ve invazyonunu uyarır. ANG'nin azalması hücre büyümesi ve çoğalmasını azaltır, bu sonuçlar da ANG'nin kan damarı oluşumundaki önemini onaylamaktadır (Kishimoto ve ark., 2005). ANG dişeti oluğu sıvısının (DOS) normal bileşenlerinden biridir. Periodontal doku kronik enflamatuvar bir süreçte ise yani KP mevcut ise dişeti oluğu sıvısında ANG'nin daha yüksek seviyelere çıkabildiği tespit edilmiştir (Sakai ve ark., 2006). Daha önce yapılan çalışmalarda sigaranın dişeti oluğu sıvısında bulunan ANG seviyelerine etkisi araştırılmadığından çalışmamız bu konuda bir ilktir.

Vasküler endotelial hücreler arasındaki birleşim bölgelerinde bulunan, endotel hücreleri tarafından eksprese edilen tek açıklıklı bir transmembran proteini olan vasküler endotelial cadherin (VE-Cad); transendotelial lökosit migrasyonu ve yeni damarların yapımında (Villasante ve ark., 2008; Schulte ve ark., 2011; Yakovlev ve ark., 2011), endotelial hücre kontaktlarının kontrolü ve idamesinde hayati öneme sahiptir (Vestweber, 2008; Bravi ve ark., 2014). Dişeti dokusunda VE-Cad salgılanmasındaki değişimler enflamasyonun başlaması ve ilerlemesinde etkilidir (Sakallıoğlu ve ark., 2015). Bu nedenle periodontal dokulardaki enflamatuvar durumların patobiyolojisi ile periodontal dokuların anjiyogenezi arasındaki ilişkinin gösterilmesinde önemli bir belirteç olabilir. (Villasante ve ark., 2008; Schulte ve ark., 2011; Yakovlev ve ark., 2011).

Periodontitis bölgelerinde DOS'ta VE-Cad seviyeleri artabilmektedir (Sakallıoğlu ve ark., 2015).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı, sigara kullanımının periodontal dokuların damarlanma döngülerine zarar verdiğini, dolayısıyla da periodontal dokulardaki enflamatuvar olayları etkilediğini göstermektir. Sigaranın periodontal dokulardaki damarlanma döngülerine zarar verdiğini göstermek amacı ile damarlanma mekanizmalarında önemli rol oynayan belirteçler olan;

1. ANG
2. VE-Cad

periodontal olarak sağlıklı ve generalize kronik periodontitisli periodontal bölgelerden alınan DOS'ta düzeylerinin karşılaştırılması suretiyle biyokimyasal olarak incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalık

Periodonsiyum; sement ile alveoler kemiğin oluşturduğu iki sert doku ve periodontal ligament ile dişetin oluşturduğu iki yumuşak dokunun meydana getirdiği, dişi çevreleyen destek yapı olarak tanımlanmaktadır (Bartold ve Narayanan, 2006). Periodontitis; spesifik mikroorganizmalar ya da spesifik mikroorganizma gruplarının neden olduğu, sondalama derinliğinde artış, dişeti çekilmesi ya da her ikisi ile birlikte oluşan periodontal ligament ve alveoler kemiğin ilerleyen yıkımı ile sonuçlanan diş destek dokularının enflamatuvar bir hastalığı olarak tanımlanmıştır (Hinrichs ve Novak, 2012).

Periodontal hastalık sınıflaması; AAP (American Academy of Periodontology) tarafından 1999 yılında radyolojik, klinik ve laboratuvar özellikler değerlendirilerek aşağıdaki şekilde yenilenmiştir;

- Dişeti hastalıkları,
- Kronik periodontitis,
- Agresif periodontitis,
- Sistemik hastalıklarla birlikte görülen periodontitisler,
- Nekrotizan periodontal hastalıklar,
- Periodonsiyumun abseleri,
- Endodontik lezyonlarla birlikte görülen periodontitisler,
- Gelişimsel veya kazanılmış deformite ve durumlar (Armitage, 2014).

2.1.1. Kronik Periodontitis

Daha önceleri 'erişkin periodontitis' veya 'kronik erişkin periodontitis' olarak tanımlanan KP, çoğunlukla erişkinlerde görülmekle birlikte, kronik plak ve diştaşı birikimine bağlı bir cevap olarak çocuklarda ve adölesanlarda da görülebilmektedir. Periodontitis tipleri arasında en sık rastlanı KP'dir (Flemming, 1999). KP yavaş ilerleyen bir hastalık olarak kabul edilmesine rağmen plak birikimine karşı konak cevabını değiştiren diabet, sigara kullanımı ya da stres gibi sistemik veya çevresel faktörlerin varlığında hastalığın ilerleyişi daha agresif olabilmektedir (Novak ve Novak, 2012).

2.1.2. Klinik Özellikler

Tedavi edilmemiş KP'li hastalardaki karakteristik klinik bulgular; sıklıkla diş taşı oluşumu ile ilişkili olan supragingival ve subgingival plak birikimi, gingival enflamasyon, periodontal cep oluşumu, periodontal ataçman kaybı ve nadiren de olsa bazen süpürasyondur (Novak ve Novak, 2012). Bazı vakalarda enflamasyona bağlı dişeti büyümesi veya dişeti çekilmesi, kök ve furkasyon bölgelerinin açığa çıkması, artmış diş mobilitesi ve dişlerin migrasyonu da görülebilmektedir (Kinane ve Lindhe, 2003). KP klinik olarak marjinal dişetinde kronik enflamatuvar değişikliklerin tespit edilmesi, periodontal cep varlığı ve klinik ataçman kaybı ile, radyografik olarak ise kemik kaybı bulgusu ile teşhis edilebilmektedir.

Hastalığın ilerleyişi genellikle yavaştır ancak sistemik, çevresel ve davranışsal faktörler ile değişebilmektedir. KP'nin başlangıcı herhangi bir zamanda olabilmektedir ve ilk bulgular kronik plak ve diş taşı birikimi varlığında adölesanlarda ortaya çıkabilmektedir. KP'nin yavaş ilerleyişi nedeni ile 30'lu yaşların ortalarında ya da daha geç dönemlerde klinik olarak önemli duruma gelir (Novak ve Novak, 2012).

KP ağızdaki tüm etkilenen bölgelerde eşit oranda ilerleme göstermez. Bazı bölgelerde hastalık uzun periyotlar boyunca durağan kalırken, diğer bölgelerde hastalık daha hızlı ilerleyebilmektedir. Daha hızlı ilerleyen lezyonlar genellikle interproksimal bölgelerde, plak birikiminin daha fazla olduğu bölgelerde ve furkasyon bölgeleri, taşkın marjinli restorasyonlar, malpoze diş bölgeleri ya da gıda sıkışması olan bölgeler gibi plak kontrolü uygulamaları için ulaşımın zor olduğu bölgelerde görülür (Novak ve Novak, 2012).

KP bölgeye özel bir hastalıktır. Bu nedenle, subgingival plak birikiminin lokal etkisi olarak dişin bir yüzeyinde cep oluşumu, ataçman ve kemik kaybı görülürken, diğer bölgeler etkilenmeden kalabilir.

KP hastalığın dağılımına göre lokalize ve generalize olmak üzere 2'ye ayrılır:

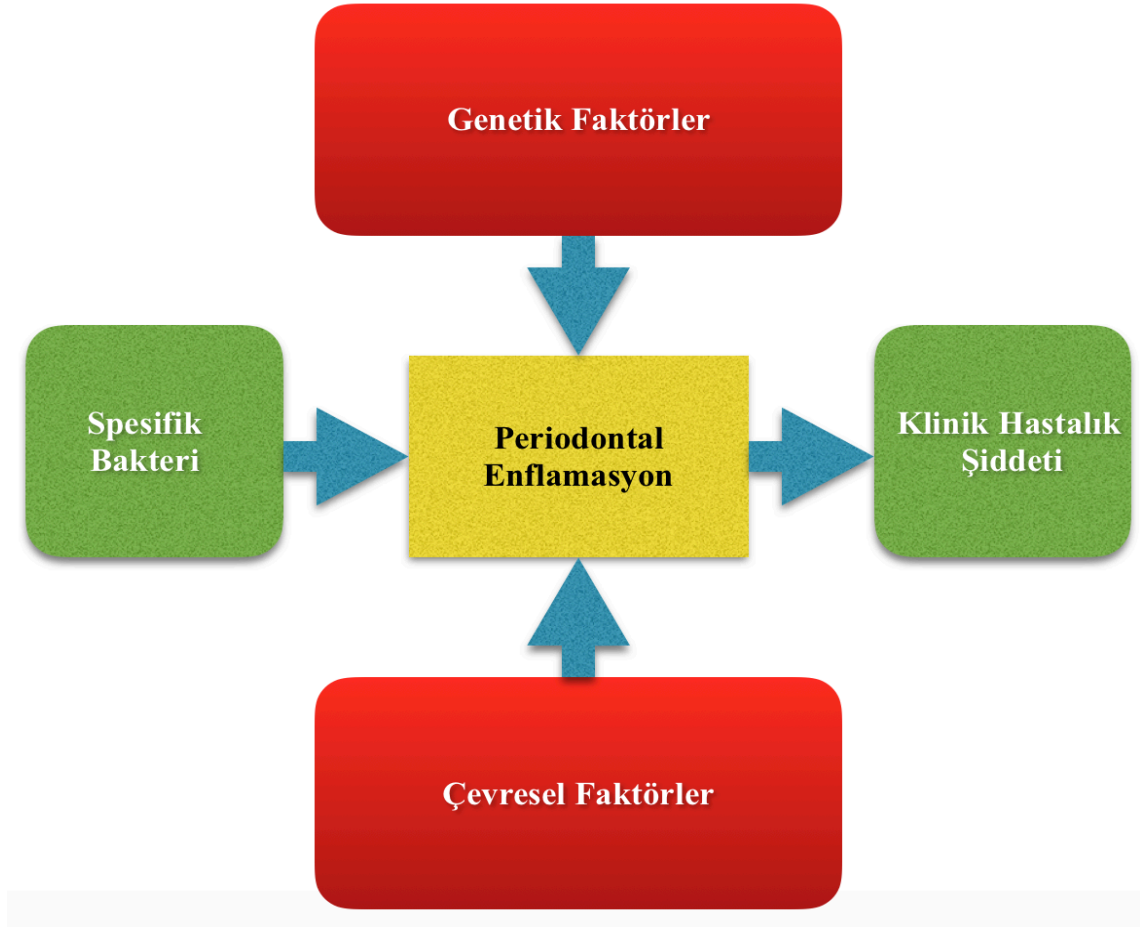
- Lokalize Kronik Periodontitis: Ataçman ve kemik kaybından etkilenen bölge sayısı tüm ağzın % 30'unun altındadır.
- Generalize Kronik Periodontitis: Ataçman ve kemik kaybından etkilenen bölge sayısı tüm ağzın % 30'u veya üzerindedir (Novak ve Novak, 2012).

KP sonucu oluşan periodontal doku yıkımının şiddeti genellikle zaman ile ilişkilidir. Artan yaş ile daha uzun süre yıkıma maruz kalındığından ataşman ve kemik kaybı daha şiddetli ve daha yaygın olur. KP, hastalık şiddeti bakımından üçe ayrılır:

- Hafif şiddette Periodontitis: Klinik ataşman kaybı 1-2 mm arasında sınırlı kalmıştır.
- Orta şiddette Periodontitis: Klinik ataşman kaybı 3-4 mm arasındadır.
- İleri şiddette Periodontitis: Klinik ataşman kaybı 5 mm ve üzerindedir. (Novak ve Novak, 2012)

2.1.3. Periodontitis Etyopatogenezi

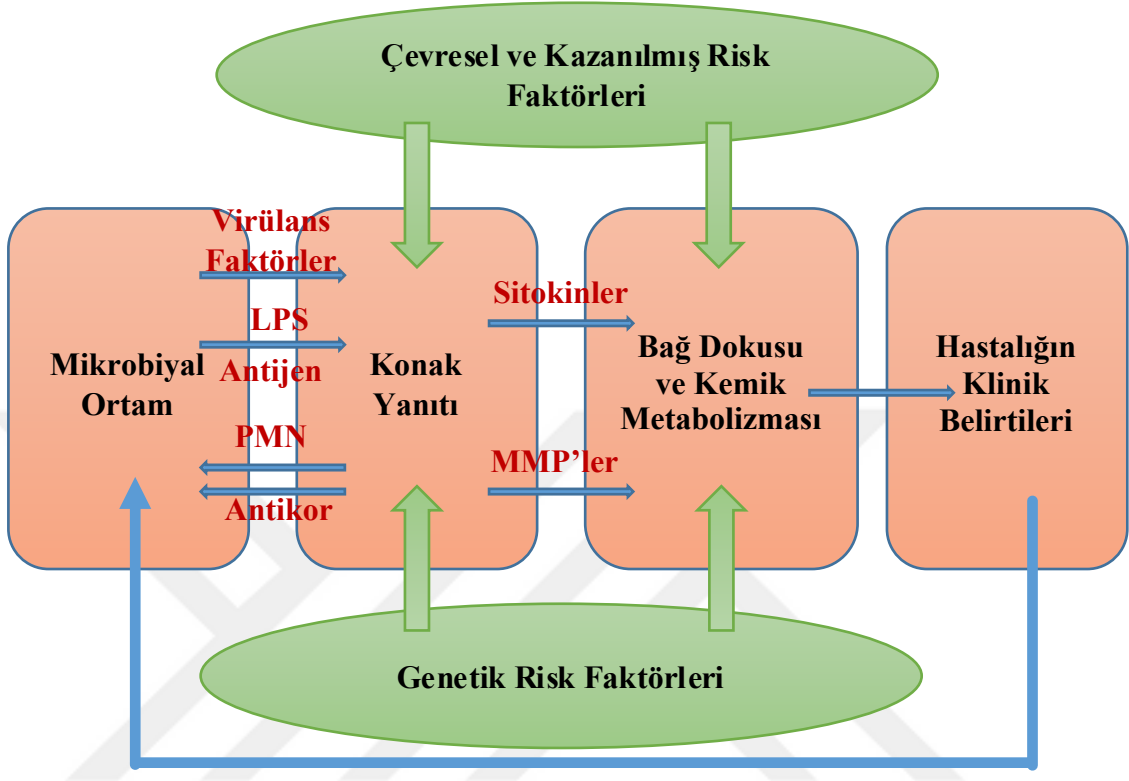
Periodontitisin majör etyolojik faktörü mikrobiyal dental plaktır (Offenbacher, 1996). Periodontitis, mikrobiyal plak ve konak cevabı arasındaki normal dengenin bozulduğu multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Bu bozulma plak kompozisyonundaki değişim, konak cevabındaki değişim ya da plak ve konak cevabı üzerine etki eden çevresel ve davranışsal etkiler sebebiyle olabilmektedir. Ayrıca periodontal yıkımın sıklıkla aynı aile bireyleri içinde görülmesi ve ailedeki farklı nesillere aktarılması, periodontal hastalığa yatkınlıkta genetik kökeni akla getirmektedir (Novak ve Novak, 2012).



Şekil 1. Periodontal enflamasyonun oluşumu (Kornman, 2001)

Mikrobiyal dental plakta bulunan mikroorganizmalar patojenik etkilerini direkt doku yıkımına neden olarak veya indirekt olarak konak yanıtını uyararak gösterirler. Direkt doku yıkımında, mikroorganizmaların periodontal dokulara invazyonu ve hücre ölümü ile doku nekrozunu indükleyen zararlı maddelerin üretimi görülmektedir (Bascones ve ark., 2009). Örneğin *Porphyromonas gingivalis* ürettiği proteaz, kollajenaz, fibrinolizin ve fosfolipaz A enzimleri ile periodonsiyumun yüzeysel tabakalarını çevreleyen dokuları direkt olarak parçalar (Hausmann ve ark., 1970). KP durumunda dental plak içerisinde bulunan özellikle *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* gibi endojen gram negatif periodontopatojen bakteriler tarafından başlatılan anormal enflamatuvar cevap meydana gelir (Ishikawa ve ark., 1997). 1997 yılında Page ve Kornman tarafından

düzenlenen periodontitis patogenezi mekanizması modeline göre konak immunoenflamatuvar mekanizmaları bakteriyel ürünler tarafından aktifleştirilir.



Şekil 2. Periodontitisin Patogenezi (Page ve Kornman, 1997)

Mikrobiyal dental plağın mekanik temizlik ile uzaklaştırılmaması sonucu olgunlaşmasıyla dişetinde klinik enflamasyon belirtileri ortaya çıkar ve gingivitis oluşur. Gingivite oluşan enflamasyona karşı bağışıklık sisteminin yanıtı yeterli koruma gösteremezse, bakteri ve bakteri ürünleri daha derin dokulara penetre olur ve subgingival plak oluşur. Periodontitiste görülen mikroflora, gram negatif anaerobik basiller, koklar ve anaerobik spiroketlerden oluşur (Saglie ve ark., 1986).

Periodontal hastalığın gelişimi dört evrede incelenebilir:

1. Akut bakteriyel atak:

Diş çevresinde mikrobiyal enfeksiyonlardan korunmak ve periodontitis gelişimini önlemek amacıyla faaliyet gösteren farklı mekanizmalar vardır. Bazı bireylerde ve bazı durumlar altında periodontal patojenler ortamda mevcut olmasına rağmen hastalığın klinik görünümü ortaya çıkmaz (Løe ve ark., 1986).

Gingival, sulkular ve bağlantı epitelinin oluşturduğu eksiksiz ve sağlam epitelyal bariyer bakteriyel saldırılara karşı periodontal dokuları korur ve bakteri ürünlerinin penetrasyonunu önler (Kornman ve ark., 1997).

Tükürük salınımı oral kavitenin sürekli olarak yıkanmasını , bakterileri bir araya getirip öldürebilen aglütinin, lizozim, salgısal immunoglobulin (Ig) A ve spesifik antikorların devamlı olarak temin edilmesini sağlar (Kornman ve ark., 1997; Morelli ve ark., 2014).

DOS; sulkusu ya da periodontal cebi devamlı olarak yıkayarak spesifik antikorlar ve kompleman proteinlerini içeren tüm kan serumu elemanlarını subgingival bölgeye ulaştırır, subgingival plak mikroorganizmalarını öldürerek konak savunmasında önemli bir rol üstlenir (Kornman ve ark., 1997).

Gram negatif bakteriler yağ asitleri, lökosit aktive edici özelliği olan peptitler ve lipopolisakkaritleri içeren bakteriyel metabolik ürünleri salgırlar (Garlet, 2010). Bu ürünler bağlantı epitelini uyararak bağlantı epitelinden interlökin (IL)-1, prostaglandin E₂ (PGE₂) ve matriks metalloproteinaz (MMP) gibi proenflamatuvar mediatörlerin sentezlenmesine aracılık eder. Sentezlenen mediatörler bağlantı epitelinden geçerek bağ doku içerisine ilerler (Abe ve ark., 1991). Bağlantı epitelinin enflamasyonu sonucu küçük kan damarları hızla derinleşerek bölgeye ulaşır. Çok sayıda lökosit özellikle de nötrofil post kapiller venüllerden çıkarak bağlantı epiteline göç eder ve dişeti oluşuna ulaşır (Thomas ve Puleo, 2011). Kan damarlarından göç eden bu hücreler savunmada öncülük eden hücrelerdir (Horton ve ark., 1974; Mathur ve Michalowicz, 1997).

Bununla birlikte epitelyumdan köken alan nöral öğeler lokal vasküler cevabı etkileyen nöropeptitleri salgırlar. Bakteri ürünleri ve epitelyal cevap perivasküler mast hücrelerini etkinleştirerek histamin salınımını uyarır ve vasküler endotelyal hücrelerden IL-8 salınımını aktive ederek nötrofillerin yerini saptamaya yardımcı olur (Kornman ve ark., 1997).

Lipopolisakkarit gibi bakteriyel komponentler endotelyal hücreleri direkt ya da indirekt olarak aktifleştirerek bağ doku hücrelerinden enflamatuvar mediatörlerin salınımını stimule eder (Graves, 2008). Perivasküler mast hücrelerinden salınan histamin, prostaglandinler, IL-1 β gibi interlökinler, makrofajlardan, keratinositlerden ve fibroblastlardan salınan MMP enflamatuvar mediatörlerdir (Meikle ve ark., 1994).

Lipopolisakkaritler ayrıca kompleman kaskatını da aktive eder ve kinin üretimini stimüle eder (Kornman ve ark., 1997).

Özetlenecek olursa bu aşamada konak tarafından bakteri ürünlerine karşı oluşturulan epitelyal ve nöral bir yanıt söz konusudur ve bu yanıt vasküler yapı temellidir (Kornman ve ark., 1997; Page ve Schroeder, 1981).

2. Akut inflamatuvar yanıt:

Mevcut bakterilerin varlığı ve salınan çok sayıda mediatörün etkisiyle damar geçirgenliği artar ve buna bağlı olarak lökosit adezyon molekülleri ile lökosit aktive edici ajanların salınımı artar. Akut faz proteinleri (c-reaktif protein, fibrinojen, ferritin, serum amiloid protein v.b.) dahil olmak üzere plazma içeriği dişeti oluğuna geçer ve lökositler damar dışına çıktıktan sonra çoğunlukla sulkus içinde kalır (Hart ve ark., 1994).

Bu fazda akut bakteriyel atak fazındaki olaylara ek olarak serum protein sistemlerinin ve makrofajların da olaya dahil olduğu gösterilmiştir. Vasküler sızıntı ve serum proteinlerinin damar dışına çıkışı ile spesifik olmayan lokal inflamatuvar cevap büyümeye başlar, endotel hücre aktivasyonu artar ve epitel hücre proliferasyonu görülür. İlave lökosit ve monositler makrofaj üretimini uyarır (Kornman ve ark., 1997).

Monosit/makrofaj periodontitis patogenezinde önemli rol oynar. Gram negatif periodontal patojenlerin esas virulans bileşeni olan lipopolisakkarit biofilmden sızarak dişeti dokusu içerisine girer. Lipit bağlayıcı proteine bağlanır. Bu kompleks monosit/makrofaj tarafından salınan CD-14 reseptör tarafından tanınır, sonucunda ise transmembran sinyalleri uyarılır. Bu sinyaller hücrelerden prostoglandinlerin, sitokinlerin ve MMP'lerin sentezlenip salgılanmasını aktive eder (Page ve ark., 1997).

Sitokinlerden tümör nekroz faktör (TNF) α ve IL-1 β fibroblastların hücre yüzey reseptörlerine tutunur, MMP ve PGE₂ sentezi ve salgılanmasını başlatır. MMP, dişeti ve periodontal ligamentin ekstrasellüler matriksi yıkımına, PGE₂ ise alveoler kemik yıkımına aracılık eder (Page ve ark., 1997). PGE₂ ayrıca gingival fibroblastlardan kollajen sentezlenmesini azaltır (Arai ve ark., 1995). IL-1 β ve TNF α ise direkt olarak kemik yıkımının sadece küçük bir kısmında etkilidir (Offenbacher ve ark., 1985).

Sonuç olarak bu aşamada kan damarlarında geçirgenlik artışı, aktive olmuş adezyon moleküllerinin etkisiyle nötrofillerin damar dışına göçü, serum proteinlerinin damar dışına çıkışı ve dokularda aktivasyonu, mononükleer hücrelerin dokularda toplanması ve epitel hücre proliferasyonu söz konusudur (Kornman ve ark., 1997).

3.immun yanıt:

Bakteri atağına karşı meydana gelen ilk enflamatuvar yanıtta sonra dokuda mononükleer hücre sayısında artış ortaya çıkar. Kan damarlarından kaynaklı eksuda çoğunlukla mononükleer hücrelerden oluşur. Akut enflamatuvar yanıtta baskın hücreler olan makrofaj ve serum proteinlerine ek olarak bu fazda T hücreleri, B hücrelerinden oluşan lenfositler ve plazma hücreleri dokuda belirgin hale gelir. T lenfositler $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücrelerini oluştururken B lenfositler antikor üreten plazma hücrelerini oluşturmaktadır.

Aktive olan T hücreleri immun yanıtı şekillendiren sitokinler olan IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL10, IL-13'ü içeren interlökinleri, TNF- α , transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β , interferon (IFN)- γ gibi sitokinleri ve makrofaj enflamatuvar protein (MIP) gibi bir takım kemotaktik maddeleri üretir. Plazma hücreleri dokuda baskın hale gelerek Ig G gibi immunoglobulinleri, IL-6 ve TNF- α sitokinlerini üretir. Makrofajlar ürettikleri mediatörler ile doku yıkımına neden olurken aynı zamanda $CD4^+$ T hücrelerini aktive eder (Kornman ve ark., 1997; Preshaw ve Taylor, 2011).

Bu faz sonucunda doku lenfositlerinde, plazma hücrelerinde ve makrofajlarda artış meydana gelir, lokal ve sistemik spesifik immun yanıt aktive olur, immunojenik bakteriyel antijenlere karşı antikor üretilir (Kornman ve ark., 1997).

4.düzenleme ve çözülme:

Lokal hücrel ve humoral cevaplar çoğu bireyde limitli bakteriyel ataklara karşı koymada yeterlidir. Olağan konak cevabının lokal düzeyde daha yıkıcı etki göstermesine neden olan 2 faktör mevcuttur. Konak savunma mekanizmasının anahtar bileşenlerini direkt olarak engelleyen spesifik bakteriyel biyokütle bu faktörlerden birincisini oluşturur. Bazı subgingival biyoküteller ve spesifik bakteriler çeşitli yollar ile nötrofil fonksiyonlarına müdahale etme yeteneğine sahiptir (Darveau ve ark., 1997). Lökosit öldürücü toksinlerin varlığı (Tsai ve ark., 1981), nötrofiller için toksik etkili olan poliaminlerin ve kısa zincirli yağ asitlerinin üretimi (Nakao ve ark., 1992; Walter ve ark., 1995), endotel hücrelerindeki E-selektin artışının inhibisyonu nötrofil fonksiyonlarını etkileyen yollar arasındadır.

Bakteriyel atağa karşı daha yıkıcı konak cevabı oluşmasına neden olan ikinci faktör ise sigara, sistemik hastalıklar ve genetik değişiklikler gibi konak cevabını

değiştiren durumlardır. Bu sistemik koşullar hastalığın seyrini, şiddetini ve tedaviye cevabı etkileyen tüm mekanizmaları bozar. (Salvi ve ark., 1997; Hart ve Kornman, 1997).

İmmun yanıt fazından sonra dokuda mononükleer hücre aktivitesinde artış olur ve ataşman kaybı başlar. Enflamatuvar mediatörlerin yoğunluğu doku içerisinde arttıkça fibroblastlardan salgılanan ürünler de artar ve periodontal dokuda yıkım meydana gelir (Kornman ve ark., 1997).

2.1.4. Periodontal Hastalıkta Risk Faktörleri

• Lokal Faktörler:

Dentogingival birleşimdeki dişeti kenarında ve diş üzerinde plak birikimi, KP etiyolojisinde primer başlatıcı ajan olarak nitelendirilmektedir. Ataşman ve kemik kaybı, subgingival plak biyofilmindeki patojen ve virülan olan gram negatif organizmaların artışı ile ilişkilendirilmiştir. KP'deki ataşman ve kemik kaybı ilerleyişi çoğunlukla kırmızı kompleks olarak bilinen *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* ve *Treponema denticola* ile ilişkilidir (Novak ve Novak, 2012).

• Genetik Faktörler:

Periodontal yıkımın sıklıkla aynı aile bireyleri içinde görülmesi ve ailedeki farklı nesillere aktarılması, periodontal hastalığa yatkınlıkta genetik kökeni akla getirmektedir. Son çalışmalar lokalize ve generalize agresif periodontitis gelişiminde ailesel yatkınlığın etkili olduğunu göstermektedir. Ancak KP'li hastalar için genetik determinantlar açıkça tanımlanmamıştır. Plak ve diş taşı birikimine karşı oluşan yanıt sonucu periodontal yıkımın daha agresif olması ile ilgili bir genetik predispozisyon mevcut olabilir (Novak ve Novak, 2012). IL-1 α ve IL-1 β gen polimorfizminin periodontitis patogenezinde rol oynadığı ve periodontitis risk faktörlerinden olabileceği gösterilmiştir (Yin ve ark., 2016).

• Sistemik Faktörler:

KP'nin ilerleyişi genel olarak yavaş olmasına rağmen konak cevabını etkileyen sistemik hastalığa sahip hastalarda periodontal yıkımın miktarı önemli derecelerde artabilir. Diabet, periodontal hastalığın şiddetini ve yayılımını etkileyen sistemik bir hastalıktır.

• Çevresel ve Davranışsal Faktörler:

Sigara kullanımının periodontal hastalık şiddetini ve yayılımını arttırdığı gösterilmiştir (Johnson ve Guthmiller, 2007). Sigara kullanan KP'li bireyler daha fazla ataşman ve kemik kaybına, furkasyon problemlerine, derin ceplere sahiptir. Sigara

içenlerde içmeyenlere göre daha fazla supragingival diştaşı, daha az subgingival diştaşı ve daha az sondalamada kanama gözlenmiştir (Torres ve ark., 2009). Bu etkilerin sebebi subgingival mikrofloradaki değişim ve sigaranın konak cevabına olan etkisi olarak açıklanmıştır. Sigaranın klinik, mikrobiyolojik ve immünolojik etkileri uygulanan tedavi sonucu alınan yanıtı ve hastalığın tekrarı olasılığını etkilemektedir (Novak ve Novak, 2012).

2.2. Sigara

Sigara 4000'in üzerinde maddenin karışımından oluşan kompleks bir yapıya sahiptir (Palmer ve Soory, 2008). Sigara dumanı gaz ve partikül fazında toksik, siliatoksik ya da kanserojen özellikte birçok molekül içermektedir (Carbone, 1992). Karbon monoksit, hidrojen siyanid, reaktif okside edici radikaller, birçok karsinojen madde, psikoaktif ve bağımlılık yapan esas madde olarak da nikotin sigaranın yapısında bulunan başlıca maddelerdir (Benowitz, 1996).

Sigara, hem sigara içen bireylerin, hem de dumana maruz kalan pasif içicilerin genel sağlığını olumsuz yönde etkiler (Yıldız, 2004). Sigara kullanımı; koroner arter hastalıkları, periferik arter hastalıkları, gastrik ülser ve ağız, özofagus, larenks, pankreas, mesane, rahim kanseri gibi bir çok hastalık ile ilişkilidir. Kronik obstrüktif akciğer hastalığının başlıca sebebi sigaradır ve gebelikte sigara kullanımı düşük doğum ağırlıklı bebekler için bir risk faktörüdür (Palmer ve Soory, 2008). Düzenli olarak sigara kullanan bireylerin yaklaşık olarak %50'sinin ölüm sebepleri sigara kullanma alışkanlıkları iken, kansere bağlı ölümlerin %30'u sigara sebebiyle meydana gelir (Lindhe ve ark., 2008). Sigaraya bağlı ölümlerin çoğunluğu ise akciğer kanseri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve koroner kalp hastalıkları sebebi ile olur (Novak ve ark., 2012).

2.3. Sigara ve Periodontal Hastalık

Sigara kullanımı KP gelişimi ve ilerlemesine neden olan başlıca risk faktörüdür (Haber ve Kent, 1992; Tomar ve Asma, 2000). Birçok kesitsel veri, periodontitis teşhisinin belirlenmesinde kullanılan kriterlere dikkat çekerek sigara ile periodontitis arasındaki ilişkiyi desteklemektedir (Johnson ve Hill, 2004).

Sigara kullanımı ile periodontitis gelişimi arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla yapılan en kapsamlı değerlendirmelerden birinde (NHANES III), 18 yaş ve üzeri 12,329 birey çalışmaya dahil edilmiştir. Periodontitis, bir veya daha fazla bölgede 4 milimetre ya

da üzeri ataşman kaybı mevcudiyeti olarak tanımlanmıştır. Yaş, etnik grup, cinsiyet, gelir ve eğitim düzeyi açısından dengelenen sigara içen, içmeyen ve daha önce sigara içip o an bırakmış bireyler arasında yapılan karşılaştırmada sigara içen bireylerin içmeyenlere oranla periodontitis açısından 4 kat, sigarayı bırakan bireylerin ise sigara kullanmayan bireylere göre 1,68 kat fazla riskli oldukları bildirilmiştir. Doza bağlı olarak incelendiğinde; günde 31 adet ve üzerinde sigara içen bireylerin, 9 adet ve altı sigara içen bireylere göre 5,6' ya 2,8 oranında daha yüksek risk altında oldukları bildirilmiştir (Tomar ve Asma, 2000).

Sigara içen periodontitis hastalarında sigara içmeyen periodontitis hastalarına göre daha derin ve daha fazla sayıda periodontal cep mevcuttur (Feldman ve ark., 1983; Bergström ve Eliasson, 1987; Bergström ve ark., 2000), dişeti çekilmesi ve dolayısıyla ataşman kaybı daha fazla gözlenmektedir (Grossi ve ark., 1994; Linden ve Mullally, 1994; Haffajee ve Socransky, 2001), daha sık alveoler kemik kaybı, diş kayıpları (Bergström ve Eliasson, 1987; Grossi ve ark., 1994; Bergström ve ark., 2000; Novak ve ark., 2012) ve furkasyon problemleri (Mullally ve Linden, 1996) görülmektedir.

Tablo 1. Sigaranın periodontal hastalık şiddeti ve görülme sıklığı üzerine etkileri (Novak ve ark., 2012)

PERİODONTAL HASTALIK	SİGARANIN ETKİSİ
Gingivitis	↓ Gingival enflamasyon ve sondalamada kanama
Periodontitis	↑ Periodontal yıkım şiddeti ve prevalansı
	↑ Cep derinliği, ataşman kaybı ve kemik yıkımı
	↑ Periodontal yıkım oranı
	↑ Şiddetli periodontitis prevalansı
	↑ Diş kaybı
	Günlük içilen sigara sayısı arttıkça hastalık prevalansı ↑
	Sigaranın bırakılmasını takiben hastalık prevalansı ve şiddeti ↓

Sigaranın periodontal dokular üzerindeki direkt etkileri; fibrotik dişeti, sondalamada kanamada azalma ve dişeti oluşu sıvısında azalmadır (American Academy of Periodontology: ADA, 1996). Sigara içen bireylerdeki periodontitisin klinik görünümü marjinal dişetinde kızarıklık veya ödem ile birlikte kalınlaşmış ve fibrotik gingival marjinler şeklindedir (Haber, 1994).

Sigarayla ilişkili hastalıklarla ilgili en tutarlı bulgulardan biri, endotel hasarına sebep olan endotelyal disfonksiyonun varlığıdır (Koide ve ark., 2005; Michaud ve ark., 2006; Lu ve ark., 2011; Schweitzer ve ark., 2011). Günümüzde, sigara kullanımının dişeti damar sağlığına zarar verebildiği ve dişetindeki vazokonstrüksiyonu indükleyebildiği (Mavropoulos ve ark., 2003), dişeti kan akımı oranını azaltabildiği (Morozumi ve ark., 2004; Mavropoulos ve ark., 2007), tekrarlayan vazokonstrüksiyonlar nedeni ile immün cevabın bozulmasına katkıda bulunabildiği (Morozumi ve ark., 2004) bilinmektedir.

Nikotin ve nikotinin başlıca metabolik ürünü olan kotinin yeterli konsantrasyonlara eriştiği zaman gingival fibroblastlar tarafından fibronektin ve kollajen üretimini engeller, kollajenaz aktivitesini artırır (Tipton ve Dabbous, 1995). Periodontal dokularda nikotinin vazokonstrüktör etkisinden dolayı lokal olarak dişetindeki kan akımında yavaşlama olur. Bunun sonucunda dişeti iltihabı, kızarıklık ve kanamanın azalması ile periodontal problemlerin erken belirtileri baskılanır (Turnbull, 1995). Morozumi ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada dişeti kan akımının sigarayı bırakmayı takiben 5. günde anlamlı derecede arttığını ve bunun küçük artışlarla 8. haftaya kadar sürdüğünü göstermişlerdir.

Sigara içen bireylerde periodontal nedenle çekilmiş dişlerin kök yüzeyinde nikotin saptanması nikotinin kök yüzeyine bağlanabildiğinin kanıtıdır. Kök yüzeyindeki nikotin seviyesi kök yüzeyi düzleştirme işleminden sonra azalmaktadır (Cuff ve ark., 1989).

Sigara kullanımının dişetindeki damarlanma mekanizmalarına etkisini inceleyen sınırlı sayıda histolojik ve immunohistokimyasal çalışma mevcuttur. Mirbod ve ark. (2001), dişetin damarlanma özelliklerini immunohistokimyasal olarak incelemişler ve sigara içenlerde içmeyenlere göre küçük kan damarlarının oranının büyük damarlara oranla daha fazla olduğunu ancak yoğunluk açısından bir farklılık olmadığını gözlemlemişlerdir. Rezavandi ve ark. (2002), enflamasyonlu dokuda bulunan damar sayısının sigara içenlerde içmeyenlere göre daha az olduğunu ve nötrofil migrasyonunda rol oynayan intrasellüler adezyon molekülü (ICAM) -1 ile nötrofil yuvarlanmasında rol alan E-selektini eksprese eden damar sayısının enflamasyonsuz bölgelerde sigara içmeyenlerde içenlere göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Sigara içenlerde immün cevabın başlamasıyla birlikte vaskülaritede artış olmaksızın, endotelde görülen ICAM-1 ve E-selektin ekspresyonundaki azalmanın nötrofil fonksiyonlarını etkileyebildiğini ve

bu sebeple de sigara kullanımının bakteri plağına karşı oluşan enflamatuvar cevabı baskılabildiğini göstermişlerdir. Sönmez ve ark. (2003), 38 sigara içen ve 36 içmeyen bireyin dişetinde damarlanma yoğunluğu bakımından herhangi bir fark bulamamışlardır.

Yapılan çalışmalar sigara içen bireyler ile içmeyenler arasındaki mikrobiyal plak birikimi miktarı arasındaki farkı göstermede yetersiz kalmış ve sigara içen bireylerde herhangi bir mikrobiyal atak varlığında plağın miktarından çok niteliğinde değişiklikler meydana geldiğini belirtmiştir (Novak ve ark., 2012).

Periodontal hastalık gelişimi ile birlikte ilgili dokudaki mikroflora değişerek daha önceden ortamın hakimi olan gram (+) bakterilerin yüzdesi azalır, gram (-) bakteriler baskın hale gelir. Sigara kullanımı ile de mikroflorada benzer bir değişim olur (Darveau ve ark., 1997; Boström ve ark., 2001). Sigara kullanımı sonucu subgingival plakta oluşan değişimleri araştıran bazı çalışmalar yapılmıştır. 142 periodontitis hastası ile yapılan çalışmada 6mm ya da daha derin ceplerden alınan plak örneklerinde *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Porphyromonas intermedia* sayılarında herhangi bir değişim gösterilememiştir (Preber ve ark., 1992). Benzer bir çalışmada *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas intermedia* ve *Eikenella corrodens* prevalansı açısından sigara içen ve içmeyen bireyler arasında önemli bir fark bulunamamıştır (Stoltenberg ve ark., 1993). Diğer bir çalışmada sigara içenlerde *Tannerella forsythia* seviyeleri önemli derecelerde yüksek bulunmuştur (Zambon ve ark., 1996). Yani, sigara kullanımı plak birikim oranını etkilemez iken sık ceplerde periodontal patojenlerin kolonizasyonunu artırır ve derin ceplerde periodontal patojen seviyelerini artırır (Novak ve ark., 2012).

2.3.1. Sigara ve Periodontal Patogenez

Sigara ile ilişkili periodontal yıkımın patogenezini mikrobiyal floradaki değişime ve lokal konak yanıtındaki hasara dayandırılır (Kinane ve Chestnutt, 2000; Rivera-Hildago, 2003). Sigara kullanımı; nötrofil fonksiyonunu değiştirerek, antikor üretimini ve fibroblast aktivitelerini azaltarak, vasküler faktörleri değiştirerek ve enflamatuvar mediatörlerin üretimini arttırarak konak yanıtına zarar verip bakteriyel plağına karşı meydana gelen konak yanıtını azaltır (Johnson ve Guthmiller, 2007).

Sigaranın periodontal dokudaki negatif etkileri için önerilen mekanizmalar şunlardır;

- Vasküler değişiklikler,

- Değişmiş nötrofil fonksiyonu,
- Azalmış Ig G üretimi,
- Azalmış lenfosit proliferasyonu,
- Artmış periodontopatojen prevalansı,
- Değişmiş fibroblast bağlanması ve fonksiyonu,
- Mekanik tedavi ile patojen eliminasyonunun zorluğu,
- Sitokin ve büyüme faktörü üretimi üzerine negatif lokal etki (Johnson ve Hill, 2004).

Tablo 2. Sigaranın periodontal hastalık etiyojisi ve patolojisi üzerine etkileri (Novak ve ark., 2012)

ETİYOLOJİK FAKTÖR	SİGARANIN ETKİSİ
Mikrobiyoloji	Plak akümüasyonu oranı üzerine etkisi yoktur.
	Sığ periodontal ceplerdeki periodontal patojenlerin kolonizasyonu ↑
	Derin periodontal ceplerdeki periodontal patojenlerin seviyesi ↑
İmmun-Enflamatuvar Yanıt	Nötrofillerin kemotaksis, fagositozis ve oksidatif yanma özellikleri değişir.
	Dişeti oluğu sıvısındaki TNF- α ve PGE ₂ ↑
	Lipopolisakkaritlere yanıt olarak monositler tarafından üretilen PGE ₂ ↑
	Dişeti oluğu sıvısında bulunan nötrofil kollajenaz ve elastaz ↑
Fizyoloji	Artan enflamasyon varlığında gingival kan damarları ↓
	Normalde enflamasyon varlığında artan sondalamada kanama ve DOS'taki artış ↓
	Subgingival sıcaklık ↓
	Lokal anestezi etkisinin geçme süresi ↑

Nötrofil, bakteriyel enfeksiyonlara karşı oluşan konak yanıtının önemli bir unsurudur. Nötrofil sayısındaki ya da fonksiyonundaki değişimler lokalize ve sistemik enfeksiyonlarla sonuçlanabilir (Novak ve ark., 2012). Kemotaksis, fagositozis, oksidatif-nonoksidatif mekanizmaların kullanılması ile mikroorganizmaların öldürülmesi, süperoksit ve hidrojen peroksit üretimi, integrin salgılanması ve proteaz inhibitör üretimi

gibi oral ve periferik n6trofil fonksiyonları sigara kullanımı ya da nikotine maruz kalma nedeniyle negatif etkilenir (MacFarlane ve ark., 1992; Pabst ve ark., 1995; Ryder ve ark., 1998; Persson ve ark., 1999). Sigara kullanımının dolaşımdaki n6trofillerin sayısında artışa neden olduğu ancak ağız boşluğuna veya dişeti oluğuna ge7en n6trofil sayısını etkilemediği hatta azalttığı belirtilmiştir (Pauletto ve ark., 2000).

N6trofiller, nikotin ve kotinin gibi sigara metabolitlerine 6zel nikotidik resept6rlere sahiptirler ve bu resept6rlerin sayısı sigara i7enlerde artarken sigaranın bırakılması ile azalır (Lebargy ve ark., 1996). Sigara kullanımı resept6r agonistlerini etkiler ve bu yolla n6trofil fonksiyonlarını direkt/indirekt olarak değiştirebilir (Palmer ve ark., 2002).

Periodontal patojenlerin fagositozunda ve 6ld6r6lmesinde 6nemli g6revleri olan antikorların 6zellikle de Ig G'nin seviyeleri sigara i7en bireylerde i7meyenlere g6re daha azdır (Novak ve ark., 2012). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'a karşı reaktif yani duyarlı olan Ig G₂ sigara kullanan bireylerde azalır (Graswinckel ve ark., 2004). DOS'ta bulunan TNF α , PGE₂, MMP-8 ve n6trofil elastaz seviyeleri sigara i7en bireylerde daha fazladır. Nikotin etkisi ile lipopolisakkaritlere karşı bir cevap olarak monositlerden salgılanan PGE₂ miktarı artar (Novak ve ark., 2012).

Sigaranın fibroblast bağlanmasını ve integrin salgılanmasını değiştirdiğini, kollajen 6retimini arttırırken kollajenaz 6retimini azalttığını g6steren in vitro 7alışmalar mevcuttur (Raulin ve ark., 1988; Tipton ve Dabbous, 1995; Tanur ve ark., 2000; Austin ve ark., 2001). Sigara kullanan bireylerden 7ekilen dişlerin k6k y6zeylerinde sigara kullanmayanlara kıyasla azalmış periodontal ligament fibroblast ata7manı g6zlenmiştir (Gamal ve Bayomy, 2002). Nikotine maruz kalmış gingival keratinosit ve fibroblast k6lt6rlerinde ise proenflamatuvar sitokinler olan IL-1 ve IL-6 6retimi daha fazladır (Johnson ve Organ, 1997; Wendell ve Stein, 2001). Bakteriyel lipopolisakkaritler ile nikotinin etkisi bir araya geldiğinde enflamatuvar mediat6rlerin 6retimi 6zerinde sinerjistik bir etki oluşur ve sonu7 olarak sigara i7en bireylerde doku yıkımı daha şiddetli olur (Payne ve ark., 1996; Wendell ve Stein, 2001). Yapılan bazı hayvan 7alışmalarında, lokal nikotin uygulaması sonucunda 7eşitli b6y6me fakt6rlerinin salgılanmasının baskılanması ve gecikmiş revask6larizasyon sebebi ile kemik iyileşmesinin negatif etkilendiği g6sterilmiştir (Hollinger ve ark., 1999; Theiss ve ark., 2000).

Özetlenecek olursa sigara kullanımı ile nötrofillerin yanıtı azalırken, doku yıkımına neden olan enzimler artar (Novak ve ark., 2012).

2.4. Dişeti Oluğu Sıvısı

DOS, sulkus veya periodontal cep içerisinde değişen kompozisyonlarda bulunan, periodontal dokuların önemli bir savunma mekanizması olarak görev yapan ve periodontal cep veya sulkusun ekolojisini belirlemeye yardımcı olan serum kaynaklı eksuda özelliklerini taşıyan bir biyolojik sıvıdır (Ebersole, 2003). DOS'un üretimi, dişeti bağ dokusundaki kan damarlarının permeabilitesinin artışı ve genişlemesi ile doğrudan ilişkili bulunmuştur (Griffiths, 2003). Enflame dişetine sahip dişlerin etrafındaki periodontal cep veya gingival sulkustan sızan enflamatuvar bir eksuda olan bu sıvı sağlıklı kabul edilen sulkusta da az miktarda da olsa bulunmaktadır (Alrowis ve ark.; 2014). Periodontal enflamasyon şiddetinin artması ile DOS anlamlı olarak artar (Armitage, 1999). Hastalıklı bir periodonsiyumda hastalık sürecinde meydana gelen enflamatuvar cevap ürünleri DOS içerisinde tespit edilebilmektedir (Delima ve Van Dyke, 2003). Bu komponentlerin varlığının tespit edilebilmesi, periodontal dokuların klinik durumunun incelenmesine, periodontal hastalık aktivitesinin ve tedavi sonuçlarının değerlendirilmesine imkan sağlamaktadır (Alrowis ve ark., 2014).

DOS deskuame epitel hücreler, lökositler gibi hücre sel elemanlar; potasyum, sodyum, kalsiyum gibi elektrolitler; karbonhidrat, protein gibi organik bileşenler; laktik asit, üre, hidroksprolin, endotoksin, hidrojen sülfid, endotoksin gibi bakteriyal metabolik ürünler, sitokinler; asit fosfataz, alkale n fosfataz, aspartat aminotransferaz gibi konak ve bakteri kaynaklı enzim ve enzim ürünleri-inhibitörleri, Ig'ler ve oral bakteriler gibi yapıları içeren kompleks bir karışımdır. DOS'un organik içeriği seruma benzemektedir ancak Ig ve kompleman bileşenleri gibi lokal olarak üretilen ürünleri de bünyesinde barındırır (Delima ve Van Dyke, 2003).

Periodontal cep içerisinde n DOS'u elde etmek için farklı yöntemler uygulanmaktadır. Her bir tekniğin avantaj ve dezavantajı olduğu için teknik seçimi çalışmanın amacına göre belirlenmelidir. DOS toplamada 3 temel yöntem ortaya konmuştur (Griffiths, 2003):

1. Dişeti oluğu yıkama yöntemi
2. Kapiller tüp yöntemi

3. Kağıt strip yöntemi

Abzorbe emilim özelliği bulunan kağıt striplerin kullanım avantajları; çabuk uygulanabilmesi, basit olması, her alana uygulanabilmesi ve doğru kullanıldığında en az travmatik yöntem olmasıdır (Griffiths, 2003).

2.5. Anjiyogenezis

İnsan vücudundaki kan damarları vaskülogenezis ve anjiyogenezis yolu ile oluşmaktadır. Vaskülogenezis ilkel damarsal ağ oluşumundan sorumlu iken, ilkel ağ oluşumu sonrası küçük damarlanmalar ile zenginleşerek meydana gelen olgun damar sistemi anjiyogenezis yolu ile oluşmakta ve yeniden şekillenmektedir. Embriyodaki kan damarları başlangıçta vaskülogenezis yoluyla, daha sonra anjiyogenezis yoluyla oluşurken; yetişkinlerde yeni damarlar çoğunlukla anjiyogenezis yoluyla oluşmaktadır (Carmeliet ve Collen 2000).

Anjiyogenezis (neovaskülarizasyon), çevrede önceden var olan damarlarda mevcut olan endotel hücrelerinin tomurcuklanması ile yeni kan damarlarının oluştuğu bir süreç olarak tanımlanır. Kronik enflamatuvar hastalık gelişiminde önemli bir aşama olan anjiyogenezis; endotel hücre divizyonunu, vasküler bazal membran ve çevre ekstrasellüler matriksin selektif yıkımını, endotel hücre migrasyonunu içeren kompleks bir oluşumdur (Folkman ve Shing, 1992; Güneri ve ark., 2004). Fizyolojik ve patolojik durumlar altında meydana gelen anjiyogenezis, proenflamatuvar hücreleri lezyona taşıyacak, enflame dokulara oksijen ve besin sağlayacak yeni kan damarlarını meydana getirmesi sonucu enflamasyonun şiddetine etki eder. Yeni kan damarlarının oluşumu ile artan endotel yüzey alanları sitokinlerin, adezyon moleküllerinin ve enflamasyonun ilerleyişi için gerekli olan diğer faktörlerin üretimi için kullanılan potansiyel substratları artırır (Johnson ve ark., 1999). Çok sayıda sitokin ve büyüme faktörü anjiyogenezisin düzenlenme döngüsüne katılır (Becit ve ark., 2001).

Anjiyojenik faktörlerin hedef damarları postkapiller venüller ve küçük terminal venüllerdir. Bu küçük damarlar bazal tabakaya dayanan yassı endotel hücrelerinden oluşmaktadır. Anjiyojenik yanıtta ilk basamaklardan biri bitişik endotel hücreleri, perisitler ve düz kas hücreleri arasındaki fokal kontaktların bozulmasıdır (Bar ve Wolf, 1972; Ausprunk ve Folkman, 1977; Ausprunk ve ark., 1978; Philips ve ark., 1991). Endotel hücreleri, integrin sinyal iletimine cevap olarak ekstrasellüler matriks ve bazal membran boyunca göç etmektedirler. Tek bir endotel hücresi seçilir ve diğerlerinin göçü

engellenir. Perfüz tüpü oluşturmak üzere ve diğer endotel hücrelerinin anjiyogenezise katılmasını engellemek için seçilen bu hücre tip hücre olarak adlandırılır (Carmeliet ve Jain, 2011). Aktive olan endotel hücreler ekstraselüler matriksi parçalamayı ve ana damardan uzaklaşmayı sağlayan proteolitik enzimler üretmektedirler (Rifkin ve ark., 1982). Bu olaylar kılcal damar tomurcuklarının oluşumunu başlatmakta, anjiyogenezis sürecindeki gelecek adımları kolaylaştırmak amacıyla bazal laminada ve bitişik hücre dışı matriste sekestrasyona neden olan büyüme faktörlerinin salınımını başlatmaktadır. Ayrıca anjiyojenik yanıtın sonraki evrelerinde önemli rol oynayan endotel hücre kaynaklı sitokinler ve büyüme faktörlerinin indüksiyonu da bu aşamada gerçekleşmektedir. Anjiyojenik yanıtın bu başlangıç evreleri, endotel hücre proliferasyonu olmadan ilerleyebilmektedir. Bu işlemler kılcal damarların oluşumuyla sonuçlanmaktadır ve anjiyojenik basamakta terminal basamaklar kesilmediği sürece kılcal damarlar büyümeye ve olgunlaşmaya devam etmektedir (Sholley ve ark., 1984). Bu erken göç olaylarını takiben, mikro damarların oluşumundan sonraki aşamalara endotel hücreleri tarafından salgılanan spesifik sitokinler ve büyüme faktörleri salınımı dahil olmaktadır (Gerritsen ve Bloor, 1993). Bu anjiyojenik mediyatörlerin salınımı, endotel hücre büyümesinin otokrin ve parakrin kontrolü için ve endotel hücrelerinin fonksiyonel damarlara dönüşürken gelişmesi, yönlendirilmesi, olgunlaşması için önemli olabilmektedir. Damarın fonksiyonel olabilmesi için olgunlaşması gereklidir. Damar olgunlaşması; bazal membranın yeniden oluşması ve lümen oluşumu ile gerçekleşmektedir. Myeloid kök hücreler damar kollarının birleşmesine yardım eder ve böylece kan akışı sağlanır (Carmeliet ve Jain, 2011). Yeni oluşan kılcal damarlar aynen kalabilmektedir veya olgun venüller ve arteriollere farklılaşmaya devam edebilmektedir. (Paweletz ve Knierim, 1989; Konecny ve ark., 1992; Gamble ve ark., 1993).

2.5.1. Periodontal Dokuların Anjiyogenezisi

Periodontitis dişin yüksek vaskülarizasyona sahip destek dokularının aktif ve pasif dönemlerle karakterize bir enfeksiyonudur. Anjiyogenezis hem enflamasyonun hem de iyileşmenin belirgin özelliklerindedir ancak periodontal lezyonlardaki rolü ile ilgili bilgiler sınırlıdır (Johnson ve ark., 1999; Chapple ve ark., 2000).

Periodontal damarlanma, periodontal hastalıkların gelişimi sürecinde oldukça etkilenir. Bu süreçteki erken evrelerde perivasküler bağ doku parçalanır, kollajen fiberler harap olur, gevşek bağ doku ve enflamatuvar hücreler ile hızla dolacak olan doku içi

boşluklar meydana gelir. Gevşek bağ doku içerisinde oluşan boşluklarda kapiller kan damarları proliferer olur (Johnson ve ark., 1999). Hasar gören bölgede bir vasküler sistemin gelişmesi; proenflamatuvar hücrelerin lezyona taşınmasını, oksijen ve besin maddelerinin tedarik edilmesini ve hareketli dokulardaki hücresel artıkların kaldırmasını sağlar (Lakey ve ark., 2000).

Chapple ve ark (2000), periodontal hastalık şartlarında periodontal cep duvarının altında bulunan bağ dokuda başlıca anjiyojenik büyüme faktörlerinin yoğunluğundaki bariz değişimler nedeniyle bu bölgedeki damarlanmanın önemli miktarda arttığını göstermiştir.

2.5.2. Angiogenin

ANG, angiogenezisin güçlü uyarılarından olan (Fett ve ark.,1985) bir anjiyojenik ribonükleazdır (Adams ve Subramanian, 1999). ANG ilk olarak 1985 yılında Harvard'da Vallee ve meslektaşları ile karakterize edilmiştir. Kan damarlarının büyümesini teşvik ettiği keşfedilen insan tümöründen türetilmiş ilk proteindir (Folkman, 1971; Marx, 1985). ANG çoğu diğer anjiyojenik faktörlere kıyasla güçlü bir şekilde anjiyojeniktir. ANG, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), bazik fibroblast büyüme faktörü, asidik fibroblast büyüme faktörü ve epidermal büyüme faktörü dahil diğer anjiyojenik faktörler tarafından indüklenen anjiyogenezis için izin verici bir faktör olarak önerilmiştir (Kishimoto ve ark., 2005). ANG normal insan dokusunda ve plazma, amniyotik sıvı, tümör mikro ortamı ve beyin omurilik sıvısı (CSF) gibi insan sıvılarında bulunan bir büyüme faktörüdür. ANG'nin fizyolojik ve patolojik işlevlerinin neovaskülarizasyonla sınırlı olmadığını ortaya konmaktadır (Shapiro ve ark., 1987; Spong ve ark., 1997; Ilzecka, 2008; Skog ve ark., 2008). ANG'nin, tümör oluşumu, nöroproteksiyon, inflamasyon, doğuştan bağışıklık, çoğalma ve hasarlı dokuların yenilenmesi gibi birçok patofizyolojik süreç içerisinde yer aldığı gösterilmiştir (King ve Vallee, 1991; Lee ve ark., 1999; Hooper ve ark., 2003; Koutroubakis ve ark., 2004; Tsuji ve ark., 2005; Kieran ve ark., 2008).

Hücre düzeyinde ANG, çeşitli deneysel hücre modellerinde hücre çoğalması, migrasyon, invazyon, adezyon ve/veya farklılaşmayı düzenler (Gao ve Xu, 2008; Li ve ark., 2013). ANG insan plazmasında 200-400 ng/ml'lik bir konsantrasyonda dolaşır (Blaser ve ark., 1993). ANG yara neovaskülarizasyonuna katılır. Hasar gören pıhtılar endotel hücresi konfluansını bozduğunda, kan damarlarındaki ANG'nin yüksek

konsantrasyonu, hızlı kan damarı büyümesini ve doku tamirini kolaylaştırabilir. ANG vasküler bütünlük kaybolurken yara iyileşmesini teşvik edebilmektedir (Pan ve ark., 2012).

ANG'nin angiogenezis sürecinde bir çok önemli olayı uyardığı gösterilmiştir. Endotelial hücre yüzeyine tutunur, 170kDa reseptör (Hu ve ark., 1997) ya da bir bağlanma proteini olan 42kDa (Hu ve ark., 1993) ile hücre yüzeyinde etkileşime geçer, hücre çoğalmasını uyarır (Hu ve ark., 1997), hücre bağımlı proteazları aktive eder (Hu ve Riordan, 1993), hücre migrasyonunu ve invazyonunu uyarır (Hu ve ark., 1994). ANG endotelial hücrelerde çekirdeksel translokasyona maruz kalır, bu olay biyolojik aktivitesi için önemlidir (Moroianu ve Riordan, 1994). ANG'nin ribozomal RNA (rRNA)'nın transkripsiyonunu uyarabilme yeteneği vardır (Xu ve ark., 2002). Sonuç olarak da ribozom sentezini, protein sentezini ve hücre büyümesini artırır. ANG'nin azalması hücre büyümesi ve çoğalmasını azaltır, bu durum da ANG'nin kan damarı oluşumundaki önemini onaylamaktadır (Kishimoto ve ark., 2005). ANG dişeti oluşu sıvısının normal bileşenlerinden biridir, ancak periodontal doku kronik enflamatuvar bir süreçte ise yani kronik periodontitis mevcut ise dişeti oluşu sıvısında daha yüksek seviyelere çıkabildiği tespit edilmiştir (Sakai ve ark., 2006).

2.5.3. VE Cadherin

Cadherinler başlıca hücre adezyon molekülü ailelerinden biridir. Tipik ekstraselüler cadherin alanları (EC-alanı) tarafından tanımlanmakta ve homofilik, kalsiyum bağımlı etkileşimler yoluyla adezyona aracılık etmektedirler. Çoğu cadherin genellikle 5 ekstraselüler cadherin alanına sahiptir. Cadherinler 2 farklı aileye ayrılabilirler. E-N-P- ve C-cadherin tip I cadherin ailesindedir. VE-Cad ise tip II cadherin ailesine aittir. Cadherinlerin adezyon fonksiyonu, C terminusunun sitoplazmik protein olan cateninlerle birleşmesini gerektirmektedir. VE-Cad'ın cateninler ile ilişkisi, endotel hücre geçirgenliğinin ve adezyon yeri stabilizasyonunun hücre kontrolü için gereklidir. VE-Cad, sitoplazmik kuyruğu aracılığı ile adherens bağlantı proteini p120, β -catenin ve plakoglobin ile bağlanabilmektedir (Weis ve Nelson, 2006).

VE-Cad; endotelial hücreler arasındaki birleşim bölgelerinde bulunan bir adezyon molekülüdür ve endotelial hücre kontaktlarının kontrolü ve idamesi bakımından hayati öneme sahiptir. Adezyon fonksiyonlarına ek olarak vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) reseptör fonksiyonlarını modüle eder (Vestweber, 2008).

Enflamatuvar süreçten dolayı periodonsiyumun kan damarlarında yapısal ve fonksiyonel değişimler oluşur (Hock ve Nuki, 1978; Sakallıoğlu ve ark., 2006). Yeni damar oluşumu ve vasküler olaylar hem patojenik mekanizmalar hem de enflamasyonun çözülmesi ve iyileşmenin düzenlenmesi için kritiktir. Endotelyal hücrelerin ana görevlerinden biri sıvıların, çözülmüş maddelerin, makromoleküllerin ve savunma hücrelerinin damarlardan çevre dokuya taşınmasını sağlamaktır ve bu mekanizmayı taşıma keseciklerinden oluşan özelleşmiş hücreler arası sistemler ve hücre-hücre arası kontaklar ile düzenlemektir (Dejana ve ark., 2008; Harris ve Nelson, 2010). Hücre-hücre arası kontaklar değişik özelleşmiş adhezyon kompleksleri ile sağlanır, bunlar sıkı bağlantı ve adherens bağlantıdır (Villasante ve ark., 2008). Adherens bağlantılar VE-Cad ve komşu hücreler arası kalsiyum bağımlı ilişkiler ile oluşurlar. VE-Cad endotel hücreleri tarafından eksprese edilen tek açıklıklı transmembran proteini (Bravi ve ark., 2014). Endotelyal hücreler değişik hücre-spesifik cadherin proteinleri salgılar. VE-Cad'ın hücre kontaklarındaki varlığının ya da aktivitesinin düzenlenmesi; kan damarı duvarı permeabilitesinin düzenlenmesinde önemli bir basamaktır (Vestweber, 2008). VE-Cad, transendotelyal lökosit migrasyonu ve yeni damarların yapımında (Villasante ve ark., 2008; Schulte ve ark., 2011; Yakovlev ve ark., 2011) önemli rol oynayan adherens birleşimin ana yapısı için kritiktir (Villasante ve ark., 2008; Harris ve Nelson, 2010; Pannekoek ve ark., 2011). VE-Cad kompleksinin parçalanmasından kaynaklanan vasküler hasarın endotelyal disfonksiyona neden olduğu ortaya çıkmıştır (Harris ve Nelson, 2010; Schulte ve ark., 2011; Yakovlev ve ark., 2011). Ayrıca spesifik özellikleri ile enflamatuvar olayların başlangıcı, ilerlemesi ve durdurulmasında etkilidir. Bu nedenle periodontal dokulardaki enflamatuvar durumların patobiyolojisi ile periodontal dokuların anjiyogenezisi arasındaki ilişkinin gösterilmesinde önemli bir belirteç olabilir. (Villasante ve ark., 2008; Schulte ve ark., 2011; Yakovlev ve ark., 2011).

Periodontitis bölgelerinde DOS'da VE-Cad salınımını artabilmektedir (Sakallıoğlu ve ark., 2015). Böyle bir artış histamin, TNF- α , trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi sitokinlerin damar duvarı geçirgenliğini artırması ile açıklanabilir. Sonuç olarak, bir endotelyal hücre çekilmesi olabilir, endotelyal birleşme kuvvetinde azalmaya ve intersellüler boşluklarda olağan dışı açılmaya neden olabilir (Esser ve ark., 1998; Andriopoulou ve ark., 1999). Bu nedenle, VE-Cad salgılanmasındaki değişimler

enflamasyonun başlaması ve ilerlemesinde önemli bir basamak olarak yorumlanabilir (Sakallıoğlu ve ark., 2015).

VE-Cad adesiv fonksiyonlarına ek olarak hücre proliferasyonu , apoptozis ve VEGF reseptörünün fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi çeşitli hücresel işlemlere de katılır (Vestweber, 2008).

Sigara kullanımı, KP gelişimi ve ilerlemesinde ana risk faktörlerinden biridir. Sigaranın bu hastalık üzerindeki etkisinin; ağız florasında değişime neden olması, konak cevabının bozulmasına neden olması, periodontal doku anjiyogenezisini bozması ve böylece periodontal dokuların beslenmesinin bozulması, periodontal dokuların yenilenme ve iyileşme potansiyelini diğer dokulardakine benzer şekilde geciktirmesi ve bozması yönünde olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Damarlanma yönünden yapılan çalışmalar ise henüz çok yenidir ve sigaranın anjiyogenezis mekanizmalarını nasıl etkilediği, hangi noktaları bozduğu henüz tam olarak açıklanabilmiş ve ortaya konmuş değildir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı, sigaranın generalize KP üzerindeki etkisini damarlanma mekanizmalarındaki önemli belirteçler olan;

1. ANG
2. VE-Cad

düzeylerinin periodontal olarak sağlıklı ve generalize KP'li periodontal bölgelerden alınan dişeti oluğu sıvısındaki düzeylerinin karşılaştırılması suretiyle incelemektir.

3. MATERYAL VE METOT

Sigara kullanımının KP koşullarında DOS'ta bulunan VE-Cad ve ANG seviyelerine etkisinin araştırıldığı bu tez çalışması, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Kliniğine diş eti hastalığı nedeni ile başvuran hastalar dahil edilerek yapıldı. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 15.01.2016 tarihinde OMÜ KAEK 2016/06 karar no ile yazılı onay alındı. Çalışmaya dahil edilen bireylere araştırmanın amacı ve içeriği hakkında detaylı bilgi verilerek gönüllü olarak araştırmaya katıldıklarına dair bilgilendirilmiş gönüllü onay formu imzalandı.

3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- 35-55 yaş arası ve erkek olması
- Sistemik olarak sağlıklı olması
- Düzenli olarak herhangi bir ilaç kullanmaması
- Son bir aydır antibiyotik kullanmamış olması
- Son 6 ay içinde periodontal tedavi görmemiş olması
- Sigara içenlerin son 10 ya da daha fazla yıldır günde en az 10 tane sigara içmesi
- Sigara içmeyenlerin hiç sigara içmemiş olması şartlarını sağlayan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- 35 yaşın altında olanlar
- 55 yaşın altında olanlar
- Gönüllü olur onayı vermeyenler
- Sistemik hastalığı olanlar
- Düzenli olarak ilaç kullananlar
- Son bir ay içinde herhangi bir nedenle antibiyotik kullananlar
- Son 6 ay içinde periodontal tedavi görenler çalışma kapsamı dışında bırakıldı.

3.3. Klinik Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilecek hastaların periodontal muayenesi hastalarda bir standart oluşturmak amacıyla tek bir klinisyen tarafından tamamlandı. Periodontal

hastalığın teşhisi aşamasında mevcut olan tüm dişler değerlendirilerek hastaların klinik ve radyografik muayenesi yapıldı. Periodontal değerlendirme kapsamında; ağızdaki plak oluşumu ve birikim derecesini ölçmek için Silness-Löe plak indeksi (Pİ), dişeti enflamasyonunu değerlendirmek için Löe-Silness gingival indeksi (Gİ), sondalanabilir cep derinliği (SCD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) ölçümü yapıldı, radyolojik muayene ile kemik yıkımları belirlendi.

Pİ (Silness-Löe): Periodontal sonda dişeti kenarına yakın bölgede diş yüzeyine paralel olacak şekilde gezdirildi ve elde edilen verilere göre şu şekilde skorlandı:

0-Gingival alanda plak yok

1-Gözle fark edilmeyen ancak sonda sulkusta gezdirildiğinde fark edilen plak varlığı

2-Dişeti bölgesinde inceden orta kalınlığa kadar plak kaplıdır, çıplak gözle izlenebilen plak varlığı

3-Yumuşak eklenti fazladır ve plağın sulkusu doldurur.

Gİ (Löe-Silness): Periodontal sonda dişin uzun aksına dik olmak kaydıyla yerleştirilip dişeti kenarına temas ettirilerek gezdirildi, kanama ve dişeti yüzey özelliklerine göre skorlama şu şekilde yapıldı:

0-Normal dişeti

1-Renkte hafif değişiklik, hafif ödem, sonda ile temasta kanama olabilir

2-Eritem, ödem, parlaklık, sonda ile temasta kanama var

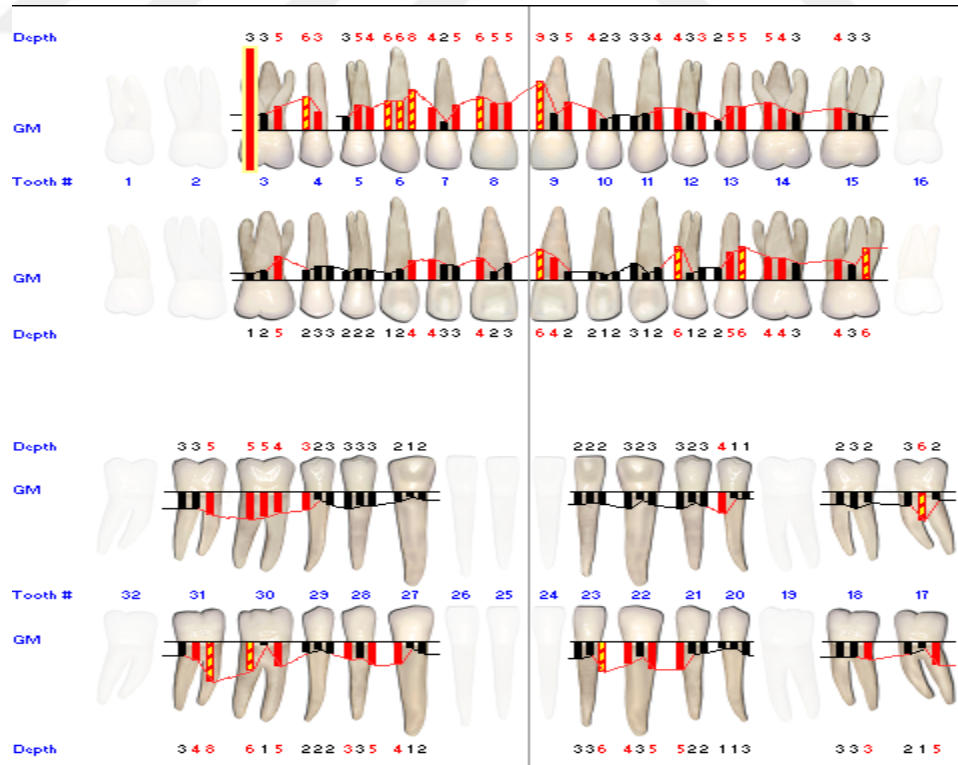
3-Belirgin eritem ve ödem, spontan kanamaya eğilim

SCD: Çapı 0.45 mm olan, standart kuvvet (15 g) uygulayan ve 0.1 mm hassasiyetle elektronik ölçüm yapan otomatik periodontal sond (Florida Probe®, version FP 32/7.2.2, Florida Probe Corporation, Gainesville, USA) kullanılarak yapıldı. Cep derinliği ölçümünde; marjinal dişeti kenarı ve sondalanabilen cep tabanı arasındaki mesafe tüm dişlerin altı yüzeyinden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual, mid-lingual ve disto-lingual olmak üzere) ölçüldü.

KAS: Mine-sement sınırından sondalanabilir cep tabanına kadar olan mesafe tüm dişlerin altı yüzeyinden (mezio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mezio-lingual, mid-lingual ve disto-lingual olmak üzere) SCD belirlenmesi ile aynı yöntem kullanılarak ölçüldü.

Radyolojik Muayene: Muayene günü klinik muayene ve periodontal parametrelerin elde edilmesinin yanı sıra tüm bireylerden standart şartlarda panoramik radyograflar çekilerek alveoler kemik değerlendirilmeleri yapıldı, kemik yıkımları radyografik olarak teşhis edildi. Normalde mine-sement birleşiminin 1.5-2 milimetre apikalinde seyreden alveoler kret seviyesi periodontitis şartlarında daha apikal seviyelerdedir.

Klinik inceleme ve radyografik değerlendirme sonucu, generalize KP teşhisi konan ve periodontal açıdan sağlıklı olan bireyler rastgele gruplara ayrıldı. Gİ ve Pİ değerleri William's Sondası (Hu-Friedy, Chicago, IL, A.B.D); SCD ve KAS değerleri otomatik periodontal sond (Florida Probe®, version FP 32/7.2.2, Florida Probe Corporation, Gainesville, USA) kullanılarak kaydedildi. Tüm klinik parametreler her dişin altı bölgesinden (mesio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mesio-lingual, mid-lingual, disto-lingual) alınarak değerlendirildi. Pİ, Gİ, SCD ve KAS ortalamaları için önce herbir dişin altı yüzeyinden elde edilen değerler toplanıp ortalamaları alınarak bir dişin ortalaması belirlendi. Daha sonra bu değerler toplanıp ortalamaları alınarak her bireyin tüm ağız Pİ, Gİ, SCD ve KAS ortalama değerleri elde edildi.



Şekil 3. Florida Probe ile ölçülen SCD değerleri tablosu

Bütün klinik parametreler, herhangi bir kalitatif ve/veya kantitatif DOS değişimi ihtimallerini elimine etmek için DOS örneği alımından 1 gün önce belirlendi.

3.4. Çalışma Grupları

Çalışmaya 35-55 yaş arası erkek sigara içen ve içmeyen bireyler olacak şekilde 60 hasta dahil edildi ve 4 çalışma grubu oluşturuldu.

Grup 1: Sigara içen ve generalize KP'li hastalar (n:15)

Grup 2: Sigara içen ve periodontal sağlıklı hastalar (n:15)

Grup 3: Sigara içmeyen ve generalize KP'li hastalar (n:15)

Grup 4: Sigara içmeyen ve periodontal sağlıklı hastalar (n:15)

Periodontal olarak sağlıklı grup: Klinik değerlendirmede tüm diş bölgelerinde 3 milimetreden fazla SCD ve KAS olmayan, tüm diş bölgelerinde $GI \leq 1$ olan, radyografik değerlendirmede herhangi bir patoloji ve kemik kaybı olmayan, periodontal hastalık geçmişi olmayan ve daha önce belirtilen çalışmaya dahil edilme kriterlerini taşıyan, en az 10 yıldır günde en az 10 sigara içen 15 hasta grup 2 olarak ve hiç sigara içmemiş 15 hasta grup 4 olarak çalışmaya dahil edildi.



Şekil 4. Sigara içen periodontal olarak sağlıklı bireyin klinik görüntüsü

Generalize KP'li grup: Klinik değerlendirmede tüm dişlerin %30 veya daha fazlasında SCD ölçümü ve KAS kaybı ≥ 5 olan, radyografide bu bölgelerde kemik kayıpları gözlenen ve daha önce belirtilen çalışmaya dahil edilme kriterlerini taşıyan, en

az 10 yıldır günde en az 10 sigara içen 15 hasta grup 1 olarak; hiç sigara içmemiş, generalize KP teşhisi konmuş 15 hasta grup 3 olarak çalışmaya dahil edildi.

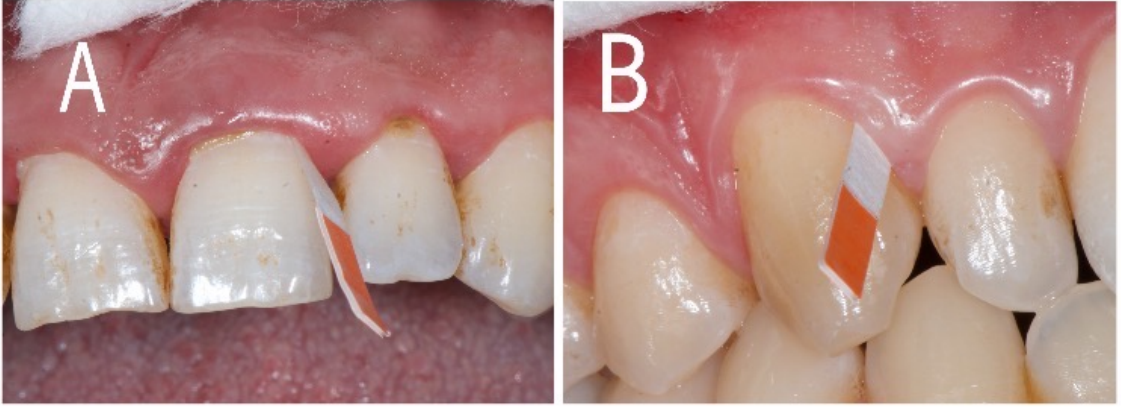


Şekil 5. Sigara içen generalize kronik periodontitisli bireyin klinik görüntüsü

DOS tüm özellikleri yansıtan en derin SCD ve en fazla KAS kaybı olan iki diştten toplanarak bir tüp içinde muhafaza edildi.

3.5. DOS Örneklerinin Toplanması

DOS örneği alınmadan önce diş dişeti kenarına dokunmadan supragingival plak steril bir scaler yardımı uzaklaştırıldı. Diş pamuk rulo tamponlar ve tükürük emici ile izole edilip steril spanç ile kurutuldu. DOS'un toplanmasında boyutları ve emiciliği standart olan 2x14 mm ebatlarındaki kağıt şeritler (Periopaper, Proflow, Inc., Amityville, NY, USA) kullanıldı. Özel kağıt şeritler dişeti oluğu ağızına yerleştirilip 30 saniye bekletildi. Bu işlem sırasında tükürük ya da kan ile kontamine olan kağıt şeritler değerlendirmeye dahil edilmedi. Kağıt şeritlere toplanan sıvının hacimsel analizi önceden kalibre edilmiş olan hacim ölçüm aracı (Peritron® 8000; Pro Flow Inc., Amityville, NY, USA) yardımıyla µl olarak hemen ölçüldü. Kağıt şeritler steril ependorf tüplere yerleştirildi ve Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) testi ile VE-Cad ve ANG analizi yapılabildi kadar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda -80°C'de saklandı.



Şekil 6. Bireylerden DOS örneklerinin toplanması A. Sigara içen kronik periodontitisli B. Sigara içen sağlıklı

3.6. Kağıt Şeritlerden DOS İzolasyonu

Tüm DOS örneklerinin toplanmasını takiben biyokimyasal değerlendirme öncesinde DOS kağıt şeritlerden izole edildi.

1. Fosfatla tamponlanmış salin (PBS) asit ve tuzu ile pH 7’de hazırlandı ve içerisine %2 olacak şekilde sığır serum albümini kondu. 1 gram sığır serum albümini kap içerisine konularak üzerine toplam hacim 50 ml (mililitre) olacak şekilde PBS eklendi. Çözelti çabuk köpükleşebileceği için PBS yavaş bir şekilde eklendi ve çok fazla çalkalamadan karıştırılarak homojenize edildi. Sığır serum albümini eklenmiş PBS karışımı bozulma ihtimaline karşı 3 gün içerisinde kullanıldı.

2. 100 µl (mikrolitre) PBS+sığır serum albumini yerleştirilebileceği küçük ependorf tüpü içerisine (0.5 ml’lik) turuncu kısımdan tutularak periopaper yerleştirildi.

3. İçerisinde periopaper bulunan küçük ependorf tüpü içine 100 µl PBS+sığır serum albümini bulunan çözelti konuldu ve +4°C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Bu şekilde alınan DOS’un periopaperden ayrışması sağlandı.

4. Küçük ependorf tüpünün ağzı kapalı şekilde ters çevrilip sıvının kapak kısmında toplanması sağlandı.

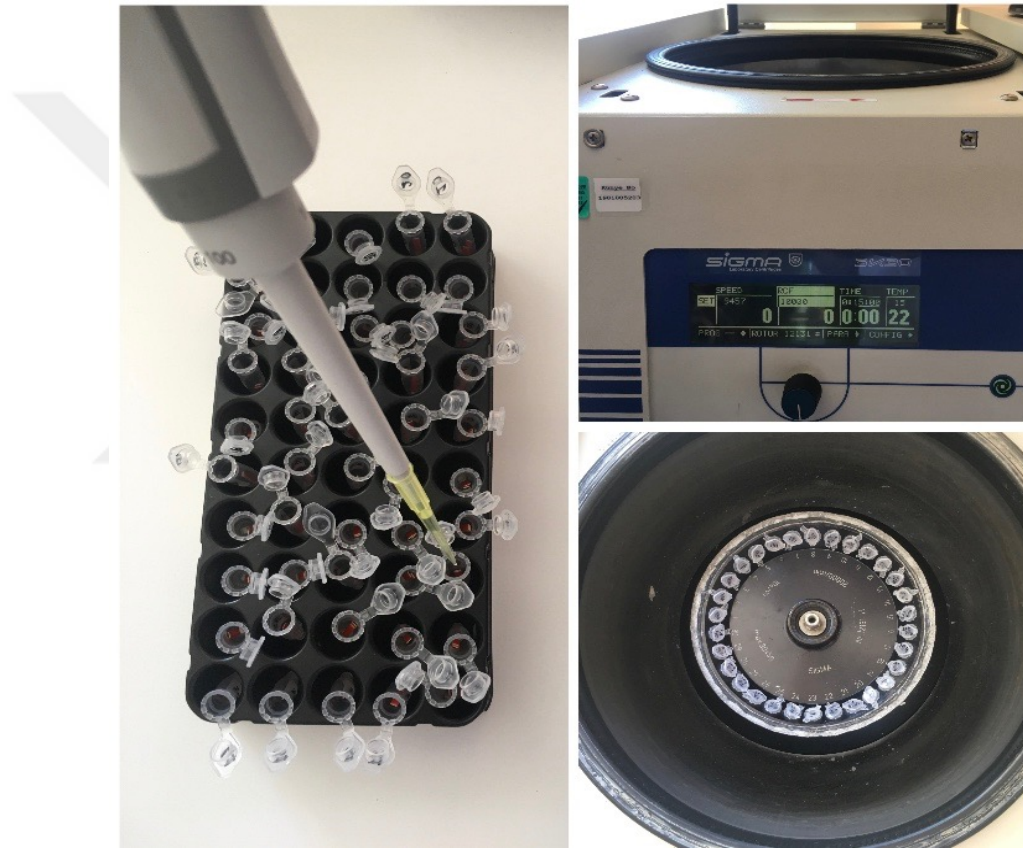
5. Tüp bu şekilde iken bir dikiş iğnesinin ucu ısıtılarak ependorf tüpünün tabanı delindi ve kapak kısmı kesilen daha büyük bir ependorf tüpü içerisine (1.5 ml’lik) düz bir şekilde (küçük ependorf tüpünün tabanı büyük ependorf tüpünün tabanına degecek şekilde) yerleştirildi.

6. Tüpler bu şekilde iç içe konularak mikrosantrifüj tüpü içerisine yerleştirilip +40C, 10000 g (santrifüj alanı)’ de 15 dakika santrifüje edildi. Bu uygulama ile ayrılan

DOS büyük ependorf tüpüne alınmış oldu.

7. Büyük ependorf tüpünde toplanan sıvı enjektör yardımı ile alınarak başka bir büyük ependorf tüpü içerisine yerleştirilip kapağı kapatıldı. Bu şekilde toplanan örnek miktarı 100 µl idi. 200 µl sıvı elde edilebilmesi için işlem uygulanan kağıt şerit tekrar yeni bir küçük ependorf içerisine alınarak 2. basamaktan itibaren işlemler tekrar edildi. Bu işlem sonunda tekrardan 100 µl sıvı elde edilip ilk işlem sonucunda elde edilen sıvıya eklendi.

8. İşlemler sonunda elde edilen sıvı ELISA tespiti yapılanaya kadar saklandı.



Şekil 7. Kağıt şeritlerden DOS izolasyonu sırasında santrifüj cihazının kullanımı

3.7. Biyokimyasal Değerlendirme

DOS, ANG ve VE-Cad düzeyleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında ELISA metodu ile belirlendi.

DOS örnekleri 10000 xg de 10 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlar çalışma için ayrıldı. Örnekler vortex yardımıyla iyice karıştırıldı. Örnekler çalışma gününe kadar için -80 °C de saklandı.



Şekil 8. Çalışmada kullanılan ELISA kitleri

3.7.1. İnsan ANG Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

DOS ANG konsantrasyonları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında ticari olarak piyasada bulunan İnsan ANG ELISA kit (Sun-Red Bio Company, Cat No. 201-12-1224, Shanghai, China) ile double-antibody sandwich method enzim immunoassay yöntemi ile çalışıldı. Tüm çalışma çözeltileri taze olarak hazırlandı ve kullanmadan önce oda ısısında (25 °C) bekletildi.

İnsan ANG standartı kullanılarak seri dilüsyon yöntemiyle, 5 adet standart (S₁-800 pg/ml, S₂-400 pg/ml, S₃-200 pg/ml, S₄-100 pg/ml, ve S₅-50 pg/ml) hazırlandı. ELISA plate üzerinde blank, standartlar ve örnekler için kuyucuklar belirlendi. Blank kuyucuğuna Chromogen A, Chromogen B ve stop çözeltisi dışında herhangi bir şey eklenmedi. Standartlara örnekler ile aynı prosedürü uygulandı. Her bir kuyucuğa 50µl

standart (S1-S5) pipetlendi ve her bir örnekten 40 µl + 10 µl ANG-antikoru pipetlendi. Daha sonra standartlar ve örneklere 50 µl Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz eklenerek 37°C' de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında plate otomatik yıkayıcı yardımıyla 5 kez 350 µl yıkama solusyonu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara 50 µl Chromogen A ve 50 µl Chromogen B ilave edilerek 37°C' de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 50 µl stop solusyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu. Çalışma sonunda TECAN marka Micro plate reader kullanılarak 450 nm. dalga boyunda absorbanslar okundu.

Numune insan ANG konsantrasyonları standart değerleri kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve elde edilen konsantrasyonlar pg/ml olarak ifade edildi. Yüksek konsantrasyonlu örnekler iki kez çalışılarak doğrulandı.

3.7.2. İnsan VE-Cad Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

DOS VE-Cad konsantrasyonları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında ticari olarak piyasada bulunan insan VE-Cad ELISA kit (Sun-Red Bio Company, Cat No. 201-1-0273, Shanghai, China) ile double-antibody sandwich method enzim immunoassay yöntemi ile çalışıldı. Tüm çalışma çözeltileri taze olarak hazırlandı ve kullanmadan önce oda ısısında (25 °C) bekletildi.

İnsan VE-Cad standartı kullanılarak seri dilüsyon yöntemiyle, 5 adet standart (S₁-24 ng/ml, S₂-12 ng/ml, S₃-6 ng/ml, S₄-3 ng/ml, ve S₅-1.5 ng/ml) hazırlandı. ELISA plate üzerinde blank, standartlar ve örnekler için kuyucuklar belirlendi. Blank kuyucuğuna Chromogen A, Chromogen B ve stop çözeltisi dışında herhangi bir şey eklenmedi. Standartlara örnekler ile aynı prosedürü uygulandı. Her bir kuyucuğa 50µl standart (S1-S5) pipetlendi ve her bir örnekten 40 µl + 10 µl VE-Cad-antikoru pipetlendi. Daha sonra standartlar ve örneklere 50 µl Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz eklenerek 37°C' de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında plate otomatik yıkayıcı yardımıyla 5 kez 350 µl yıkama solusyonu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara 50 µl Chromogen A ve 50 µl Chromogen B ilave edilerek 37°C' de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 50 µl stop solusyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu. Çalışma sonunda TECAN marka Micro plate reader kullanılarak 450 nm. dalga boyunda absorbanslar okundu.



Şekil 9. Yıkama ve Mikroplate Okuma Cihazı

Numune insan VE-Cad konsantrasyonları standart değerleri kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve elde edilen konsantrasyonlar ng/mL olarak ifade edildi. Ortalama inter-assay CV $< \% 12$, intra-assay CV ise $< \% 10$ idi. Yüksek konsantrasyonlu örnekler iki kez çalışılarak doğrulandı.

3.8. İstatistiksel İnceleme

Bu çalışma için, %95 güç, %5 tip 1 hata, ortak Standart Sapma=0,76 ve maksimum fark 1.9 ile her bir gruba alınması gereken en az hasta sayısı 5 olarak belirlendi. Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk için Kolmogorov Smirnov testi kullanıldı. Parametrelerin gruplara göre karşılaştırılması tek yönlü varyans analizi ile gerçekleştirildi. Varyans analizi sonucunda anlamlı farklılıklar

çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD ve Tamhan's T2 ile incelendi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde sunuldu. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.



4. BULGULAR

Çalışmamız, dört grupta toplanmış 60 bireyden elde edilen toplam 60 adet DOS örneği üzerinde yapıldı. Sigara içen kronik periodontitisli bireyler “Grup 1” (n=15), sigara içen periodontal olarak sağlıklı bireyler “Grup 2” (n=15), sigara içmeyen kronik periodontitisli bireyler “Grup 3” (n=15), sigara içen periodontal olarak sağlıklı bireyler “Grup 4” (n=15) olarak tanımlandı. Hasta gruplarına ait yaş dağılımı Tablo 4-1 ’de ve günlük sigara tüketim değerleri Tablo 4-2 ’de verildi.

Tablo 3. Gruplara göre yaş istatistikleri

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma
Grup 1	15	35	55	42,6	6,51153
Grup 2	15	35	43	37,9333	2,46306
Grup 3	15	38	54	50,6667	6,91444
Grup 4	15	35	55	41,3333	6,84175

Tablo 4. Gruplara göre günlük sigara tüketim değerleri

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma
Grup 1	15	10	30	18	6,21059
Grup 2	15	10	30	15	5,34522

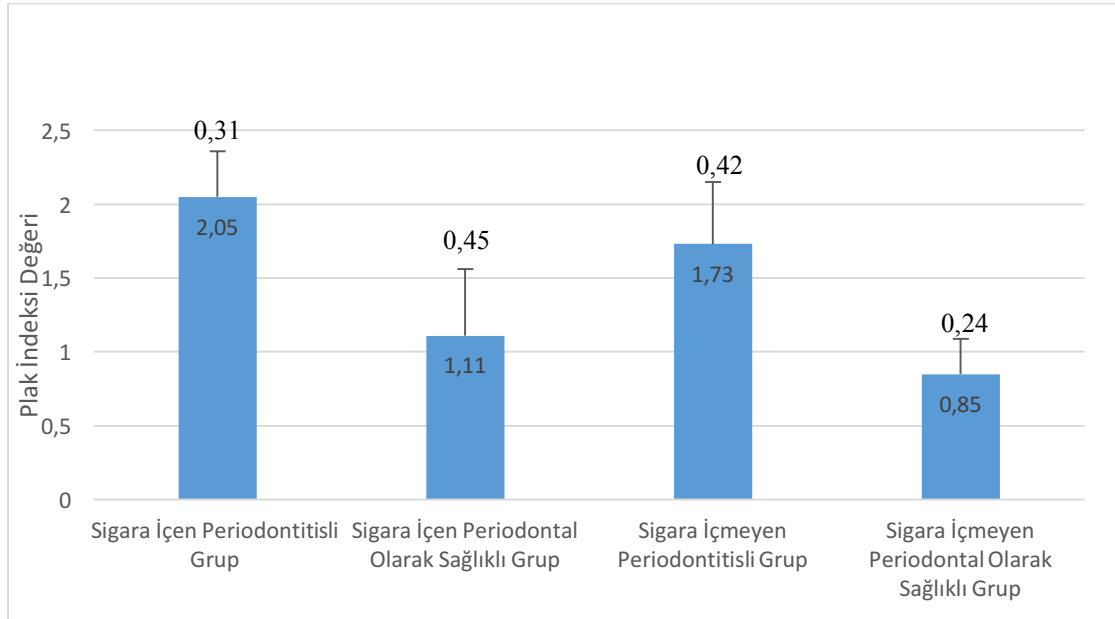
4.1. Klinik bulgular

Tablo 5. Gruplara göre Plak indeksi değerleri

Pİ	ORTALAMA ± STANDART SAPMA	F	P
GRUP 1	2,05 ± 0,31 ^{a,b}	33,791	<0,001
GRUP 2	1,11 ± 0,45 ^{a,c}		
GRUP 3	1,73 ± 0,42 ^{c,d}		
GRUP 4	0,85 ± 0,24 ^{b,d}		

F: varyans analizi test istatistiği, a-d:Aynı harfe sahip gruplar arasında fark vardır

Gruplara göre ortalama plak indeks değerleri arasında anlamlı fark bulundu($p<0,001$).



Şekil 10. Plak indeksi değerlerinin gruplara göre değişimi

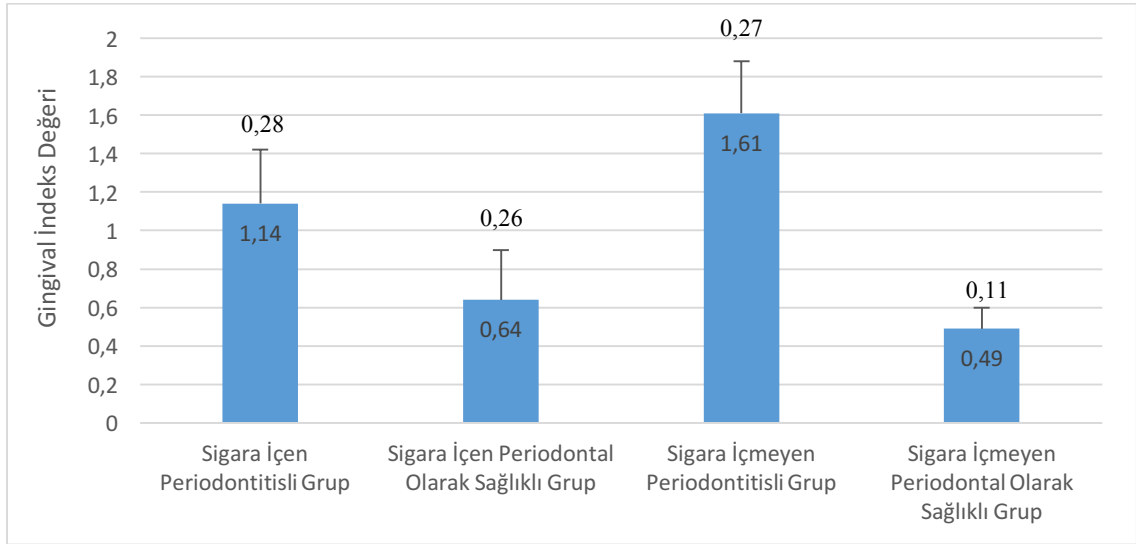
Sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 4) ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ortalamaları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en düşük ortalama değerler bu iki grupta tespit edildi. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3) ortalama değeri ile sigara içen periodontitisli grup (grup 1) ortalama değeri arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en yüksek ortalama değerler bu iki grupta tespit edildi. Sigara içen periodontitisli grup (grup 1), sigara içen periodontal olarak sağlıklı gruptan (grup 2) ve sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruptan (grup 4) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$). Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3) Pİ ortalama değerleri de benzer şekilde sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,001$).

Tablo 6. Gruplara göre Gingival indeks değerleri

Gİ	ORTALAMA ± STANDART SAPMA	F	P
GRUP 1	1,14 ± 0,28 ^{a,b,d}	67,685	<0,001
GRUP 2	0,64 ± 0,26 ^{a,c}		
GRUP 3	1,61 ± 0,27 ^{b,c,e}		
GRUP 4	0,49 ± 0,11 ^{d,e}		

F: varyans analizi test istatistiği, a-e:Aynı harfe sahip gruplar arasında fark vardır

Gruplara göre ortalama gingival indeks değerleri arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).



Şekil 11. Gingival indeks değerlerinin gruplara göre değişimi

Sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 4) ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ortalamaları arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,001$) ve en düşük ortalama değerler bu iki grupta tespit edildi. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3) ortalama değeri en yüksek ortalamaya sahip olarak saptandı ve sigara içen periodontitisli grup (grup 1), sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ve sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruptan (grup 4) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$). Sigara içen periodontitisli grup (grup 1) ortalama değeri; sigara içmeyen periodontitisli gruptan (grup 3) anlamlı düzeyde düşük belirlendi ($p<0,001$), sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ve sigara içmeyen

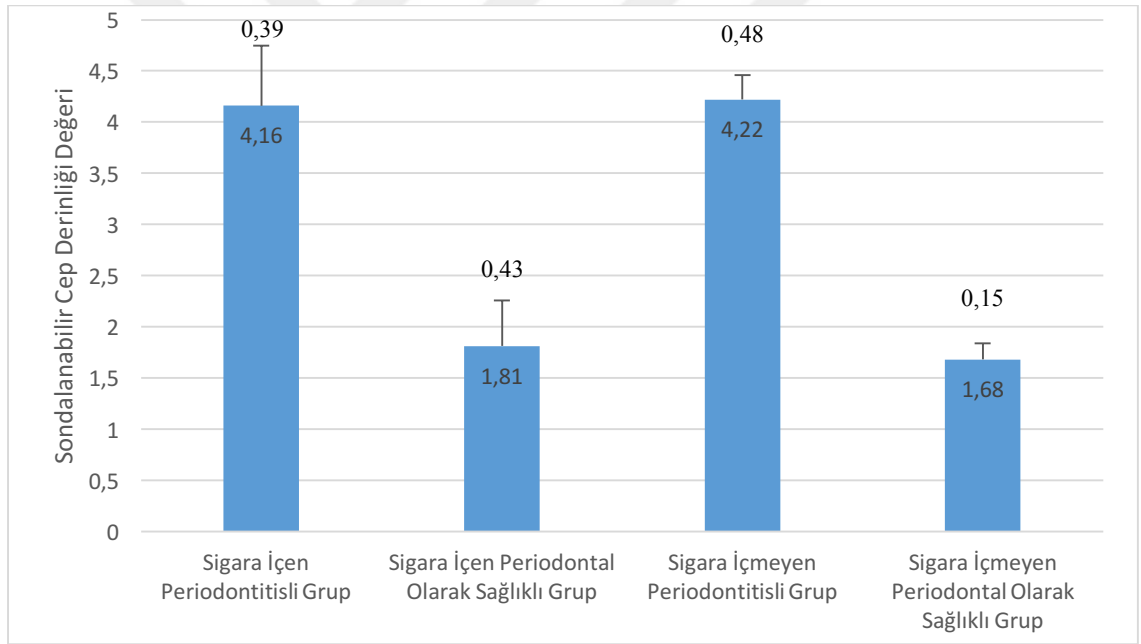
periodontal olarak sağlıklı gruptan (grup 4) ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek değerde bulundu ($p<0,001$).

Tablo 7. Gruplara göre sondalanabilir cep derinliği değerlerinin karşılaştırılması

SCD	ORTALAMA ± STANDART SAPMA	F	P
GRUP 1	3,61 ± 0,39 ^{a,b}	33,791	<0,001
GRUP 2	1,78 ± 0,43 ^{a,c}		
GRUP 3	3,63 ± 0,48 ^{c,d}		
GRUP 4	1,67 ± 0,15 ^{b,d}		

F: varyans analizi test istatistiği, a-d:Aynı harfe sahip gruplar arasında fark vardır

Gruplara göre ortalama sondalanabilir cep derinliği değerleri arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).



Şekil 12. Sondalanabilir cep derinliği değerlerinin gruplara göre değişimi

Sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 4) ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ortalamaları arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,001$) ve en düşük ortalama değerler bu iki grupta saptandı. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3) ortalama değeri ile sigara içen periodontitisli grup (grup 1) ortalama değeri arasında fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en yüksek ortalama değerler bu iki grupta belirlendi. Sigara içen periodontitisli grup (grup 1), sigara içen ve içmeyen

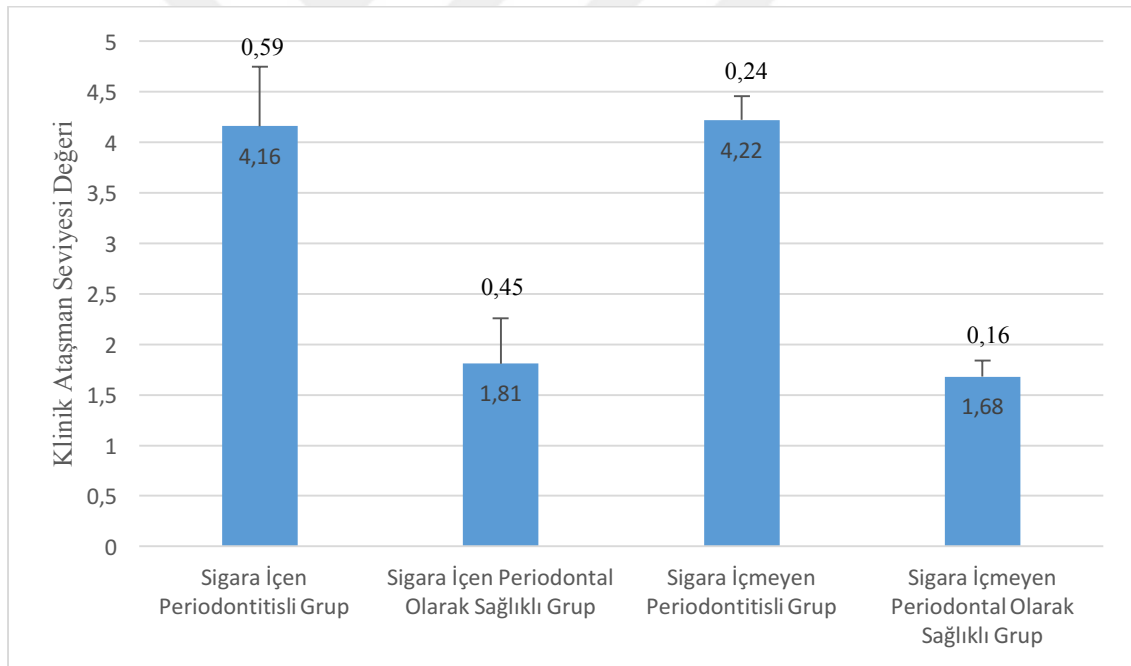
periodontal olarak sağlıklı gruptan (grup 2 ve 4) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,001$). Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3), sigara içen ve içmeyen periodontitisli gruptan (grup 2 ve 4) anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,001$).

Tablo 8. Gruplara göre klinik ataşman seviyesi değerlerinin karşılaştırılması

KAS	ORTALAMA ± STANDART SAPMA	F	P
GRUP 1	4,16 ± 0,59 ^{a,b}	190,187	<0,001
GRUP 2	1,81 ± 0,45 ^{a,c}		
GRUP 3	4,22 ± 0,24 ^{c,d}		
GRUP 4	1,68 ± 0,16 ^{b,d}		

F: varyans analizi test istatistiği, a-d:Aynı harfe sahip gruplar arasında fark vardır

Gruplara göre ortalama klinik ataşman seviyesi değerleri arasında anlamlı fark bulundu ($p < 0,001$).



Şekil 13. Klinik ataşman seviyesi değerlerinin gruplara göre değişimi

Sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 4) ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ortalamaları arasında fark bulunmadı ($p > 0,001$) ve en düşük ortalama değerler bu iki grupta görüldü. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3) ortalama değeri ile sigara içen periodontitisli grup (grup 1) ortalama değeri arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ve en yüksek ortalama değerler bu iki grupta

belirlendi. Sigara içen periodontitisli grup (grup 1), sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$). Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3), sigara içen ve içmeyen periodontitisli gruplardan (grup 2 ve 4) anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,001$).

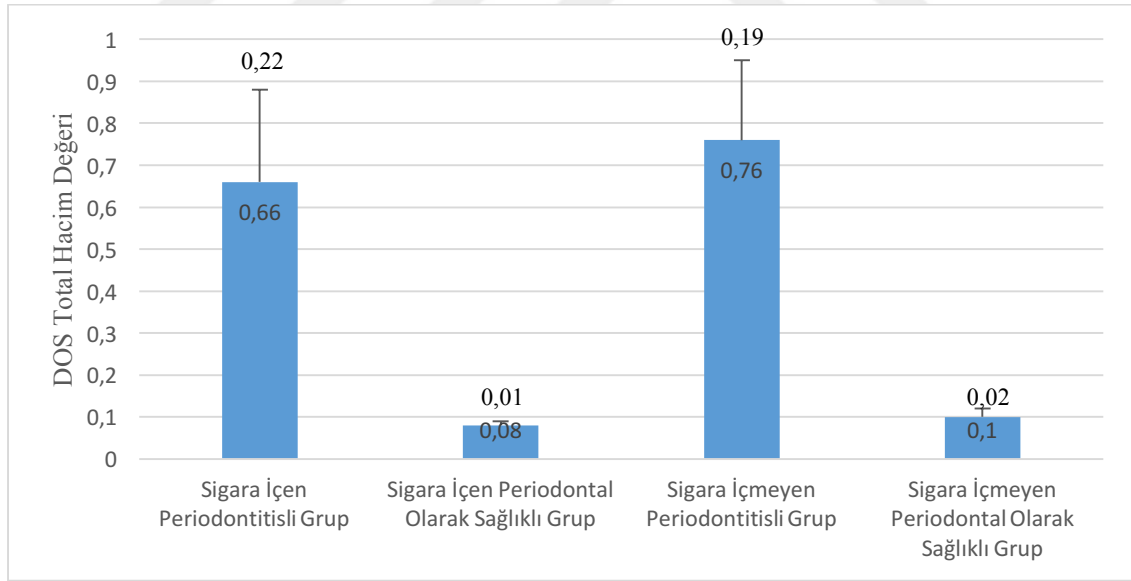
4.2. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 9. Gruplara göre DOS total hacim değerleri (μ l)

	ORTALAMA \pm STANDART SAPMA	F	P
GRUP 1	0,66 \pm 0,22 ^{a,b}	89,621	<0,001
GRUP 2	0,08 \pm 0,01 ^{a,c}		
GRUP 3	0,76 \pm 0,19 ^{c,d}		
GRUP 4	0,10 \pm 0,02 ^{b,d}		

F: varyans analizi test istatistiği, a-d:Aynı harfe sahip gruplar arasında fark vardır

Gruplara göre ortalama DOS total hacim değerleri arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).



Şekil 14. DOS total hacim değerlerinin gruplara göre değişimi

Sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 4) ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ortalamaları arasında fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en düşük ortalama değerler bu iki grupta gözlemlendi. Sigara içmeyen periodontitisli grup

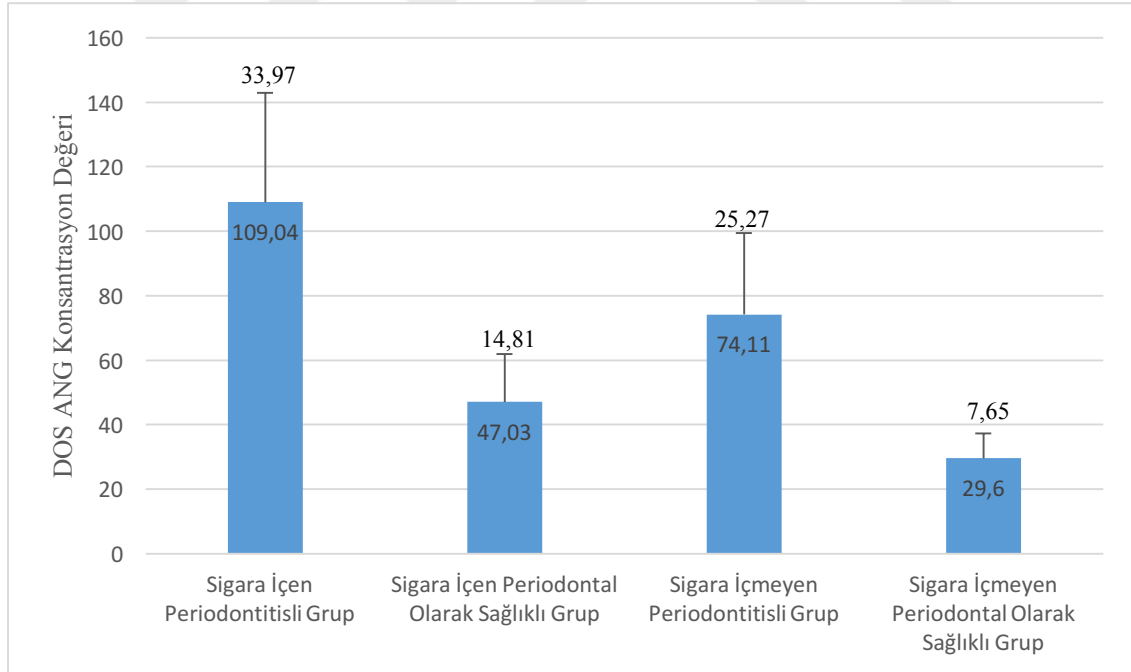
(grup 3) ile sigara içen periodontitisli grup (grup 1) arasında fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en yüksek ortalama değerler bu iki grupta elde edildi. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3), sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). Sigara içen periodontitisli grup (grup 1) benzer şekilde sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$).

Tablo 10. Gruplara göre DOS ANG konsantrasyon değerleri ($\text{pg}/\mu\text{l}$)

	ORTALAMA \pm STANDART SAPMA	F	P
GRUP 1	109,04 \pm 33,97 ^{a,b,d}	34,759	<0,001
GRUP 2	47,03 \pm 14,81 ^{a,c}		
GRUP 3	74,11 \pm 25,27 ^{b,c,e}		
GRUP 4	29,60 \pm 7,65 ^{d,e}		

F: varyans analizi test istatistiği, a-e: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark vardır

Gruplara göre ortalama DOS ANG konsantrasyon değerleri arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).



Şekil 15. DOS ANG konsantrasyon değerlerinin gruplara göre değişimi

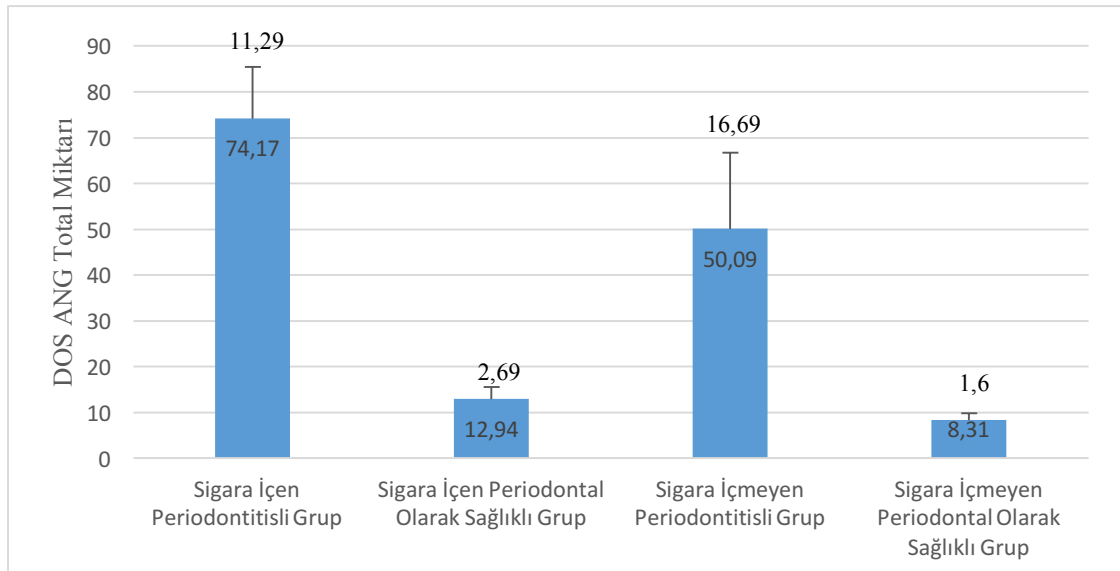
Sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 4) ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en düşük ortalama değerler bu iki grupta tespit edildi. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3) ortalama değeri, sigara içen periodontitisli gruptan (grup 1) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük, sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) ise yüksek bulundu ($p<0,001$). Sigara içen periodontitisli grup (grup 1) ortalama değeri en yüksek ortalama değer olarak belirlendi ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı gruptan (grup 2), sigara içmeyen periodontitisli gruptan (grup 3), sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruptan (grup 4) anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p<0,001$).

Tablo 11. Gruplara göre DOS ANG total miktarları (pg)

	ORTALAMA ± STANDART SAPMA	F	P
GRUP 1	74,17 ± 11,29 ^{a,b,d}		
GRUP 2	12,94 ± 2,69 ^{a,c}		
GRUP 3	50,09 ± 16,69 ^{b,c,e}	142,083	<0,001
GRUP 4	8,31 ± 1,6 ^{d,e}		

F: varyans analizi test istatistiği, a-e:Aynı harfe sahip gruplar arasında fark vardır

Gruplara göre ortalama DOS ANG total miktarları arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).



Şekil 16. DOS ANG total miktarlarının gruplara göre değişimi

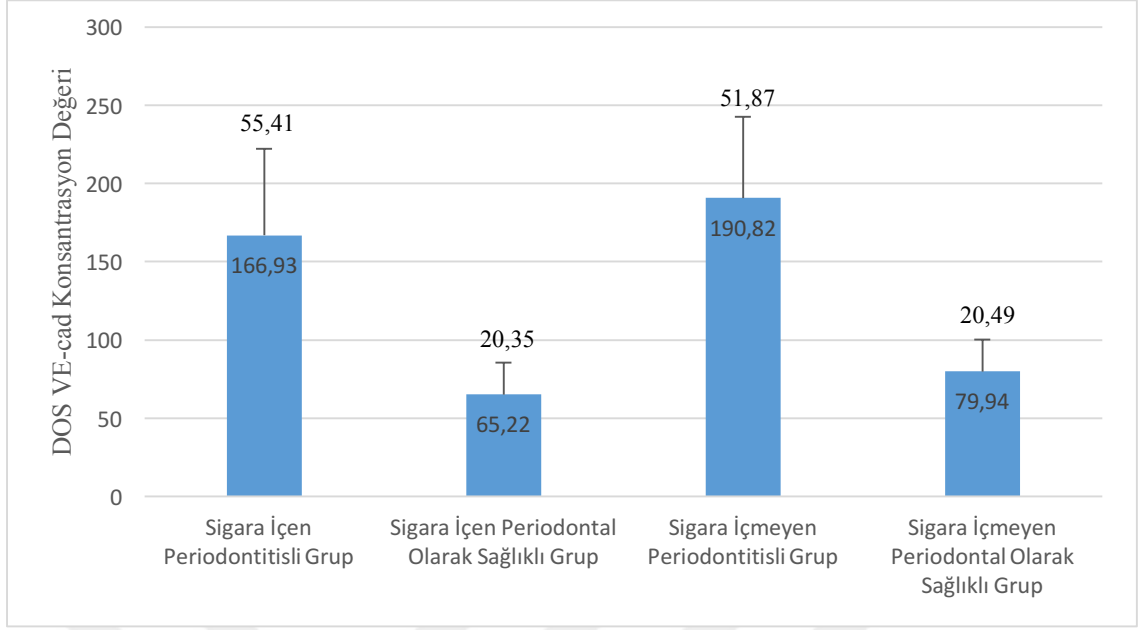
Sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 4) ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ortalamaları arasında fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en düşük ortalama değerler bu iki grupta saptandı. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3) ortalama değeri, sigara içen periodontitisli gruptan (grup 1) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük, sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) ise yüksek bulundu ($p<0,001$). Sigara içen periodontitisli grup (grup 1) ortalama değeri en yüksek ortalama değer olarak elde edildi ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı gruptan (grup 2), sigara içmeyen periodontitisli gruptan (grup 3), sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruptan (grup 4) anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p<0,001$).

Tablo 12. Gruplara göre DOS VE-cad konsantrasyon değerleri (ng/ml)

	ORTALAMA ± STANDART SAPMA	F	P
GRUP 1	166,93 ± 55,41 ^{a,b}		
GRUP 2	65,22 ± 20,35 ^{a,c}		
GRUP 3	190,82 ± 51,87 ^{c,d}	35,459	<0,001
GRUP 4	79,94 ± 20,49 ^{b,d}		

F: varyans analizi test istatistiği, a-d:Aynı harfe sahip gruplar arasında fark vardır

Gruplara göre ortalama DOS VE-cad konsantrasyon değerleri arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).



Şekil 17. DOS VE-cad konsantrasyon değerlerinin gruplara göre değişimi

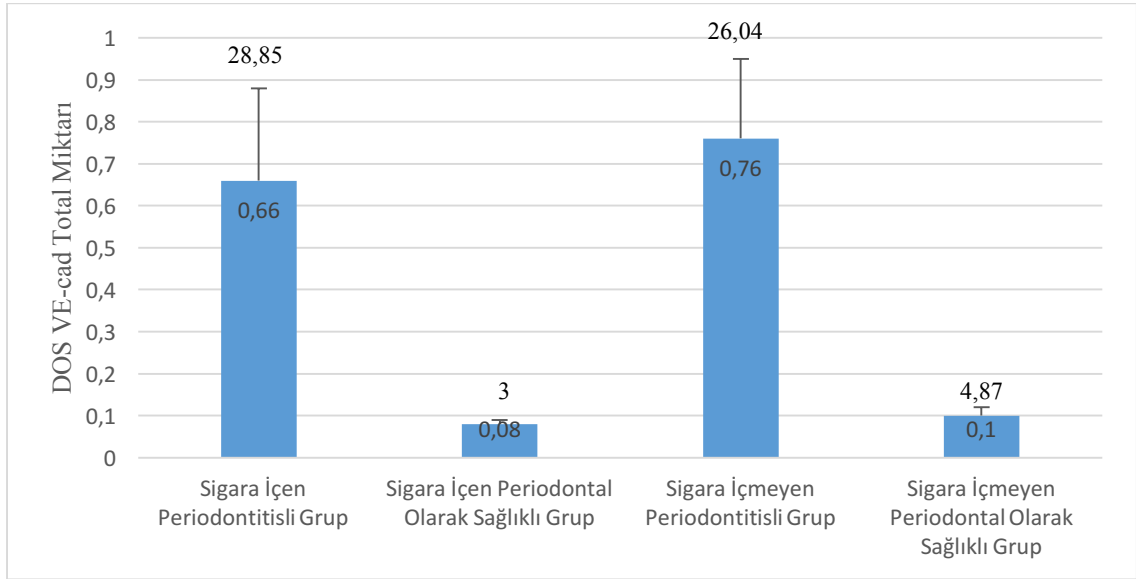
Sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 4) ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en düşük ortalama değerler bu iki grupta saptandı. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3) ile sigara içen periodontitisli grup (grup 1) arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en yüksek ortalama değerler bu iki grupta tespit edildi. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3), sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). Sigara içen periodontitisli grup (grup 1) benzer şekilde sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$).

Tablo 13. Gruplara göre DOS VE-cad total miktarları (ng)

	ORTALAMA ± STANDART SAPMA	F	P
GRUP 1	115,55 ± 28,85 ^{a,b}		
GRUP 2	17,69 ± 3 ^{a,c}		
GRUP 3	127,89 ± 26,04 ^{c,d}	135,039	<0,001
GRUP 4	22,45 ± 4,87 ^{b,d}		

F: varyans analizi test istatistiği, a-d:Aynı harfe sahip gruplar arasında fark vardır

Gruplara göre ortalama DOS VE-cad total miktarları arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).



Şekil 18. DOS VE-cad total miktarlarının gruplara göre değişimi

Sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 4) ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı grup (grup 2) ortalamaları arasında fark bulunmadı ($p>0,001$) ve en düşük ortalama değerler bu iki grupta belirlendi. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3) ile sigara içen periodontitisli grup (grup 1) arasında fark yoktu ($p>0,001$) ve en yüksek ortalama değerler bu iki grupta bulundu. Sigara içmeyen periodontitisli grup (grup 3), sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). Sigara içen periodontitisli grup (grup 1) benzer şekilde sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplardan (grup 2 ve 4) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$).

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalık; periodontal ligament ve alveoler kemikte ilerleyen yıkım ile seyreden diş destek dokularının lokal, kronik, multifaktöriyel bir enflamasyondur (Haffajee ve ark., 1991; Genco, 1996). Periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesi, bakteriyel patojenler ile konak yanıtı arasındaki hemostatik dengenin bozulması sonucu meydana gelir. Konak yanıtı ise genetik yatkınlık ve çevresel risk faktörlerinden etkilenir (Page ve ark., 1997). Sigara kullanan hastalarda sigara kullanmayan hastalara göre daha fazla klinik ataşman kaybı ve alveoler kemik kaybı gözlemlendiğinden, sigara kullanımı periodontal hastalık için en önemli çevresel risk faktörü olarak nitelendirilmiştir (Grossi ve ark., 1995; Martinez ve ark., 1995). Sigara içen bireylerde şiddetli periodontitis görülme sıklığı sigara içmeyen bireylere göre 3 kat fazladır (Papapanou, 1996).

Anjiyogenezis, yeni kan damarlarının oluşumunu anlatan bir terimdir ve kronik enflamatuvar hastalıkların gelişiminde önemli bir olay olmasının yanı sıra enflamasyonun çözülmesi ve iyileşme gibi mekanizmalarda da kritik bir basamaklardır (Güneri ve ark., 2004; Sakallıoğlu ve ark., 2015). Sigara kullanımı ile vasküler ve immünolojik reaksiyonlar engellenerek periodontal dokuların destekleyici fonksiyonları zarar görür (Bergström, 2004). Çalışmamızın amacı; periodontal dokulardaki damarlanma mekanizmalarını değerlendirme açısından önemli belirteçler olan ANG ve VE-Cad'ın DOS içerisindeki seviyelerini inceleyerek sigaranın periodontal dokulardaki vaskülarizasyon mekanizmalarına etkisini, dolayısı ile de sigaranın periodontal enflamasyon sürecine etkisini gözlemlemektir.

Periodontal dokularda yaşın artmasına bağlı olarak dişeti epiteli keratinizasyonunun azalması, epitelin incilmesi, bakterilere karşı epitelyal geçirgenliğin artması, periodontal ligamentteki fibroblast sayısının azalması gibi etkiler nedeni ile periodontal hastalığa olan yatkınlık artmaktadır (Needleman, 2007). Bu etkenler göz önünde bulundurularak, çalışmamızda güvenilir sonuçlar elde etmek amacıyla hasta gruplarının yaş aralığı sınırlandırıldı ve 35-55 olarak belirlendi.

Periodontal hastalığın primer etiyolojik faktörü mikrobiyal dental plak olmasına rağmen birçok sistemik hastalık, bozukluk ve durum, puberte, hamilelik ve hormonal değişim konak yanıtına etki eder ve periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesi yönünden risk faktörü olarak değerlendirilir (Klokkevold ve Mealey, 2012). Bu sebeple

çalışmamızın sonuçlarının etkilenmemesi amacıyla sistemik olarak sağlıklı erkek bireyler çalışmaya dahil edildi.

Hastalıkları önlemek, düzenlemek ya da iyileştirmek amacıyla reçete edilen bazı ilaçlar periodontal dokular, yara iyileşmesi veya konak yanıtı üzerinde olumsuz etkilere sebep olabilmektedir (Klokkeveold ve Mealey, 2012). Kortikosteroidlerle yapılan uzun süreli tedaviler osteoporozu destekleyebilmektedir ve bu durum da periodontal hastalık için risk oluşturabilir (Seymour, 2006). Deneysel çalışmalar kortikosteroid kullanımının gingival ülserasyona, ataçman kaybına ve transseptal fibrillerde parçalanmaya neden olabileceğini göstermiştir (Lipari ve ark., 1974; Cavagni ve ark., 2005). Ek olarak yüksek doz glukokortikoid kullanımının fibroblast aktivitesi baskılanmasına, kollajen ve bağ doku kaybına, reepitelizasyon ve anjiyogenezis fonksiyonlarında azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Pessoa ve ark., 2004). Bu sebepler doğrultusunda ilaç kullanan bireyler çalışma dışında bırakıldı.

Periodontal dokularda gözlenen dişeti çekilmesi, sondalanabilir cep derinliği ve klinik ataşman seviyesi gibi klinik bulgular sigara tüketim miktarı ile önemli derecede ilişkili olduğundan doza bağlı olarak periodontal dokulardaki etkilenme derecesinin arttığı belirtilmiştir (Ramon ve Echeverria, 2002). 889 hastanın dahil edildiği bir çalışmada günde 1 adet, günde 10 adetten fazla ve günde 20 adetten fazla sigara içen hastalar 3 gruba ayrılmıştır. Klinik ataşman seviyelerindeki artış sırasıyla %0,5, %5 ve %10 olarak gözlenmiştir (Martinez ve ark., 1995). Ramon ve Echeverria (2002), 240 hastanın dahil edildiği çalışmalarında günde 1-10 adet, 11-30 adet ve 30 adetten daha fazla sigara içen bireylerin sigara kullanmayanlara kıyasla sırasıyla 2,3, 4 ve 12 kat daha fazla periodontitise yakalanma riski olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan başka çalışmalara göre de 20 yıldan uzun süredir günde 20 adet sigara içen bir birey periodontal hastalık açısından 20 kat daha fazla risk altındadır (Hyman ve Reid, 2003; Bergström, 2004). Tomar ve Asma (2000), günde 31 adet ve üzerinde sigara içen bireylerin, 9 adet ve altı sigara içen bireylere göre 5,6'ya 2,8 oranında daha yüksek risk altında olduklarını bildirmiştir. Sigara tüketim dozunun periodontitisin başlangıcını ve şiddetini etkilediği yönündeki literatürlere dayanarak çalışmamıza en az 10 yıldır günde en az 10 sigara içen hastalar dahil edildi. Kontrol grubundaki hastalar ise hiç sigara içmeyen bireylerden oluşturuldu.

DOS, dişlerin çevresindeki dişeti sulkusunda ya da periodontal ceplerde bulunan serum transüdası ya da enflamatuvar bir eksudadır. Periodontitis koşullarında meydana gelen periodontal doku yıkımı sırasında konak yanıtı ile ilişkili çeşitli materyaller DOS'ta tespit edilmektedir. Bu sıvı içerisinde lökositler, antikorlar, komplement proteinleri ve çeşitli enzimler, sitokinler, interlökinler gibi önemli enflamasyon belirteçlerinin bulunduğu görülmüştür (Lamster ve Ahlo, 2007). DOS, periodontal dokunun homeostazını koruyarak ve dental plak bakterilerine karşı koruyucu yanıtın bir parçası olarak kabul edilmektedir. DOS analizi, mevcut periodontal durumun teşhis edilmesi ve periodontal tedavinin etkisinin değerlendirilmesi için yararlı olabilir. Üstelik, DOS'ta yeni belirteçlerin tanımlanması, periodontitiste rol oynayabilecek yeni mekanizmaların açıklığa kavuşturulmasına katkıda bulunabilir (Sakai ve ark., 2006). Periodontal hastalıkların teşhisinde kullanılan klinik ölçümlerin, mevcut hastalık aktivitesinden ziyade önceki periodontal hastalığın belirtilerini gösterdiğinden dolayı sınırlı miktarda faydalı olduğu saptanmıştır. Periodontal hastalık sürecinde çeşitli immünopatojenik mekanizmalar yer aldığından, periodontal dokuların mevcut durumunun belirlenmesinde DOS analizinin klinik ölçümlere ilave fayda sağladığı belirtilmiştir (Özmeriç, 2004). Bu nedenle, bir çok çalışmada periodontal dokularda meydana gelen biyokimyasal değişimleri araştırmak amacıyla DOS kullanılmıştır ve DOS miktarı ve içeriğinin periodontal hastalıkla ilişkili olarak değiştiği pek çok çalışmada gösterilmiştir (Lamster ve Ahlo, 2007; Becerik ve ark., 2012). Tüm bunlara ek olarak DOS örneklerinin toplanmasının invaziv olmayan bir yöntem oluşu da önemli bir avantaj olarak değerlendirilmiştir (Griffiths, 2003). Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda DOS örnekleri kullanıldı.

Klinik ataşman seviyelerinin belirlenmesi periodontal hastalık teşhisi ve periodontal tedaviye klinik cevabın değerlendirilmesi için bir standart haline gelmiştir. Bu ölçümün elde edilebilmesindeki kısıtlamaları gidermek amacı ile çeşitli sondalama metodları ve araçları geliştirilmiştir. Birinci nesil araçlar konvansiyonel sondalardır. İkinci nesil sondalarda kontrollü kuvvetler kullanılır ve en büyük avantajları klinisyenler arası tekrarlanabilirliği arttırmalarıdır (Pihlstrom, 1992). Üçüncü nesil sondalar kontrollü kuvvetler özelliğine ek olarak otomatik ölçüm, bilgisayarlı veri saklama ve ölçüm hassasiyeti avantajlarını sağlar (Jeffcoat ve Reedy, 1991). Konvansiyonel sondalar milimetrik kalibrasyona sahip iken üçüncü nesil sondalardan olan Florida Probe'un

ölçüm hassasiyeti 0,1mm'dir (Pihlstrom, 1992). Üçüncü nesil sondaların tüm bu avantajları ve ölçümlerde sağladığı hassasiyet göz önüne alınarak çalışmamızda çapı 0.45 mm olan, standart kuvvet (15 g) uygulayan ve 0,1 mm hassasiyetle elektronik ölçüm yapan otomatik periodontal sonda Florida Probe (Florida Probe®, version FP 32/7.2.2, Florida Probe Corporation, Gainesville, USA) kullanıldı.

DOS örnekleri elde edilerek biyokimyasal analiz sonucu verilere ulaşılan çeşitli çalışmalarda, DOS örneklerinin toplandığı diş bölgelerinin seçimlerinde farklı yaklaşımlar vardır. Sakallıoğlu ve ark. (2015), sigara içen periodontitis hastalarında VEGF ve VE-Cad seviyelerini değerlendirdikleri çalışmalarında periodontitis grubuna dahil olan hastaların DOS örneklerini 4 mm'den büyük sondalama derinliğine sahip diş bölgelerinden, kontrol grubundaki hastaların DOS örneklerini ise 3 mm'den küçük sondalama derinliğine sahip diş bölgelerinden elde etmişlerdir. Stein ve ark. (2004), sigara içen kronik periodontitis hastalarında DOS'ta bulunan TGF- β 1 seviyelerini araştırdıkları çalışmalarında periodontitis teşhisli hastaların en az 5 mm cep derinliğine sahip diş bölgelerinden DOS örnekleri elde etmişlerdir. Goutoudi ve ark. (2004), kronik periodontitis hastalarında periodontal tedavinin DOS içeriğindeki IL-1 β ve IL-10 seviyelerine etkisini araştırdıkları çalışmalarından DOS örneklerini en az 5 mm'lik sondalama derinliğine sahip diş bölgelerinden toplamışlardır. Çalışmamızda literatürlerle benzer olarak DOS toplama bölgeleri için sondalama derinliğinin en az 5 mm olduğu en derin ceplerin olduğu bölgeler seçildi.

Çalışmamızda periodontal muayene işlemlerinin vazgeçilmez bir parçası olan klinik indekslerin alınması sırasında mekanik travma sonucu ve özellikle periodontitisli gruplarda enflamasyonun fazla olmasına bağlı olarak oluşabilecek kanama sonucu DOS miktarında ve içeriğinde herhangi bir değişim meydana gelme ihtimalini elimine etmek amacıyla DOS örnekleri klinik ölçümlerden 1 gün sonra toplandı (Güneri ve ark., 2004; Becerik ve ark., 2012; Sakallıoğlu ve ark., 2015). DOS örnekleri özel kağıt şeritler kullanılarak intrasulkuler metod ile 30 saniye sulkus içerisinde bekletilerek toplandı. İntrasulkuler metod periotron ile hacim ölçme imkanı sağladığı, travmaya neden olmadığı ve hasta tarafından kolay kabul edilebilir olduğu için sıklıkla kullanılmaktadır (Sanz ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda DOS örneğinin toplama süresi uzadığında DOS içeriğinin interstisyel sıvı içerisindeki protein konsantrasyonu yerine serum içeriğine benzediği gösterildiği için örnek toplama süresi önemlidir (Curtis ve ark., 1998). Birçok

çalışmada bu süre 30 saniye olarak saptanmıştır (Becerik ve ark., 2012; Nibali ve ark., 2012).

Periodontal hastalıkların başlaması ve ilerlemesinde en önemli etiyolojik faktör olan mikrobiyal dental plağın tespiti için uygulaması kolay ve objektif bir yöntem olan Silness-Löe plak indeksi (1964) kullanıldı. Silness-Löe plak indeksi hastanın oral hijyen seviyesini göstermektedir ve klinik çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır. Literatürde, sigara kullanımının periodontal hastalık üzerine etkisini inceleyen araştırmaların bir çoğunda sigara içenlerde Pİ değerlerinin içmeyenlere kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Shegiham 1971; Demirkaya, 1997). Birtakım çalışmalarda ise sigaranın Pİ skorlarına etkisi olmadığı belirtilmektedir (Haber ve Kent, 1994; Axelsson ve ark., 1998; Haffajee ve Socransky, 2001; Calsina ve ark., 2002). Bilginer (2000), oral hijyen uygulamaları yetersiz olduğu takdirde sigaranın periodontal hastalık şiddetini arttırabileceğini, ancak oral hijyen seviyesi iyi ise sigaranın olumsuz bir etkisi olmayacağını bildirmektedir. Çalışmamızda sigara içen periodontitisli hastalar ile sigara içmeyen periodontitisli hastalar ve sigara içen periodontal olarak sağlıklı hastalar ile sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı hastalar arasında Pİ yönünden anlamlı fark olmadığından sigaranın Pİ üzerine yani plak birikimine bir etkisi olmadığı saptandı. Fakat hem sigara içen hastalarda hem de sigara içmeyen hastalarda periodontitisli grubun Pİ yönünden periodontal olarak sağlıklı gruba göre daha yüksek skorlara sahip olduğu saptandı. Bu sonuçlar klasik bir bilgi olan, oral hijyen uygulamaları yetersiz olan bireylerin periodontal sağlığının kötü olduğu görüşünü desteklemekte ve ayrıca ne sağlıklı ne de periodontitisli bireylerde sigaranın plak birikimine etki etmediğine işaret etmektedir.

Sigara içen bireylerde periodontal enflamasyon, kanama gibi dişeti iltihabının klinik belirtilerinin sigara içmeyenlere göre azaldığı belirtilmiştir (Novak ve ark, 2012). Sigara, dişeti damar sağlığına zarar vererek, dişetinde vazokonstrüksiyona neden olabilmektedir (Mavropoulos ve ark., 2003). Sigara içen bireylerde kan damarı sayısının daha az olduğu savunulmaktadır (Novak ve ark, 2012). Yapılan birçok çalışma, sigara içen bireylerde periodontal hastalığın şiddetli olduğu durumlarda dahi dişeti kanamasının daha az görüldüğünü bildirmektedir (Boström ve ark., 2001; Haffajee ve Socransky, 2001; Calsina ve ark., 2002; Johnson ve Hill, 2004). Çalışmamızda sigara içen periodontitis grubunun Gİ skorları sigara içmeyen periodontitis grubuna göre anlamlı bir

farkla daha az bulundu. Sigara içenlerde Gİ skorlarının sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında daha düşük olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Feldman ve ark., 1983; Bergström, 1989; Axelsson ve ark., 1998). Periodontal olarak sağlıklı gruptaki hastalar belirlenirken Gİ skorları 1'den az olan hastalardan seçildi. Bu nedenle sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. Sigara ile Gİ arasındaki ilişki, çalışmamızda literatürdeki genel yaklaşımı destekler biçimde bulundu. Sigara içenlerde Gİ değerlerinin daha az oluşu, bu bireylerde gingival dokuların vasküler cevabının değişmesi sebebiyledir. Dişetindeki vazokonstrüksiyon, kan damarı miktarı artışındaki azalma Gİ değerlerindeki azalmanın nedeni olarak değerlendirilebilir.

Periodontal hastalığın önemli klinik bulguları olan sondalanabilir cep derinliği artışının ve klinik ataşman kaybının, sigara içmeyenlere kıyasla sigara içen hastalarda daha yaygın ve şiddetli olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (Tonetti, 1998; Johnson ve Hill, 2004; Ramseier, 2005; Johnson ve Guthmiller, 2007). Sigara içen periodontitis hastalarında sigara içmeyen periodontitis hastalarına göre daha fazla sayıda ve daha derin periodontal cep mevcut olduğu görülmüştür (Feldman ve ark., 1983; Bergström ve Eliasson, 1987; Bergström ve ark., 2000). Sigara kullanımına bağlı olarak periodontal hastalık durumunda ataşman kaybının daha fazla gözlemlendiği bildirilmektedir (Grossi ve ark., 1994; Linden ve Mullally, 1994; Haffajee ve Socransky, 2001). Çalışmamızda sigara içen periodontitis grubu ile sigara içmeyen periodontitis grubu arasında SCD ve KAS parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bu durum hasta grupları oluşturulurken hastaların seçim şekli nedeniyle olabilir. Hastalarımız belli kriterlere göre seçildiğinden bilinen diğer periodontal enflamasyon etkenleri elimine edildi. Bu şartları sağlayan hastalar gruplara rastgele dahil edildi. Dolayısıyla SCD ve KAS değerleri de benzer bulundu.

DOS hacminin periodontal enflamasyonun şiddetine bağlı olarak arttığı savunulmuştur (Armitage, 1999). DOS hacmi periodontal hastalık durumunda artacağından DOS içeriğinde bulunmakta olan enzim ve sitokinlerin konsantrasyon değerlerinde göreceli bir azalma riski oluşabilir (Haerian ve ark., 1995; Tsai ve ark., 1995). DOS içeriğindeki sitokin ve enzimlerin değerlendirilmesinde konsantrasyon değerlerine kıyasla total miktar değerlerinin incelenmesi sonucu hastalık aktivitesi ile daha yakın ilişkili sonuçların elde edileceği savunulmuştur (Nakashima ve ark., 1994;

Lamster ve ark., 1986; Becerik ve ark., 2012). Total miktar veri sunumu ve konsatrasyon miktar veri sunumunun birlikte kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (Engebretson ve ark., 2002; Erdemir ve ark., 2004; Kurtis ve ark., 2005; Yücel ve ark., 2008; Sakallıoğlu ve ark., 2015). Mevcut literatürler ışığında, çalışmamızda DOS içeriğinde bulunmakta olan ANG ve VE-Cad seviyelerini ifade etmek için hem total miktar hem de konsantrasyon veri sunum modeli birlikte kullanıldı.

Periodontal enflamasyon durumunda periodonsiyumdaki hücresel cevabın bir parçası olan DOS'un, iltihabın fazla olduğu bölgelerde daha yüksek hacimlerde bulunduğu savunulmuştur (Armitage, 1999; Özkavaf ve ark., 2000). Çalışmamızda da benzer şekilde periodontitis gruplarında periodontal olarak sağlıklı gruplara göre daha yüksek DOS hacim değerleri elde edildi. Gingival kan akımı ve DOS hacmi tarafından oluşturulan gingival mikrosirkülasyonun sigara içenlerde daha az olduğu ve sigarayı bırakanlarda bu durumun zamanla düzeldiği gösterilmiştir (Morozumi ve ark., 2004). Bu nedenle sigara içenlerde içmeyen bireylere göre DOS hacminin azaldığı saptanmıştır (Hedin ve ark., 1981; Danielsen ve ark., 1990; McLaughlin ve ark., 1993; Persson ve ark., 1999) ve sigara içen bireylerde periodontal enflamasyona bağlı olarak artması beklenen DOS hacmi sigara içmeyen bireylere oranla daha az bir artışa sahip olarak bulunmuştur (Novak ve ark., 2012). Sigara içen periodontitis grubunun DOS hacim ortalama değeri sigara içmeyen periodontitis grubundan daha az olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Benzer şekilde sigara içen periodontal olarak sağlıklı grubun DOS hacim ortalama değeri sigara içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruptan daha az bulundu fakat bu fark istatistiksel olarak bir anlam ifade etmedi. DOS hacmi ile SCD değeri arasında anlamlı bir ilişki olduğu savunulmaktadır (Brock ve ark., 2004). Sigara içen ve içmeyen hastalar arasında DOS hacmi yönünden fark görülmemesinin sebebi hastaların SCD değerleri arasında da bir fark bulunmamış olması olabilir.

ANG; normal insan dokusunda ve sıvılarında bulunan, angiogenezin güçlü uyarılarından olan, yeni damar oluşumu açısından kilit role sahip bir büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır (Fett ve ark., 1985; Lieken ve ark., 2001; Ganz, 2003; Kishimoto ve ark., 2005; Tello-Montoliu ve ark., 2006). Vasküler bütünlük kaybolurken damarsal yara iyileşmesini teşvik edebilmektedir (Pan ve ark., 2012). Rotenberg (2010); bağ dokusu grefti operasyonu sonrası erken iyileşme dönemindeki kan akımı, doku kalınlığı ve moleküler değişimleri incelediği çalışmasında bağ dokusu grefti alıcı bölgenin mesial

ve distal interproksimal bölgelerinden DOS örnekleri elde edip bu örneklerdeki ANG düzeylerini incelemiştir. Operasyon öncesi ve operasyon sonrası 3, 7, 14, 21. günlerde elde edilen DOS örneklerindeki ANG seviyeleri karşılaştırılmıştır. İşlem sonrası 3. günde ANG konsantrasyonunun önemli derecelerde arttığı, 7. günde ise başlangıç seviyesine döndüğü görülmüştür. Morelli ve ark. (2011), mukogingival cerrahi işlemlerde otojen serbest dişeti grefti ile canlı hücre yapısı içeren preparatları kullandıkları iki farklı grubun yara iyileşme süreçlerini incelerken yara sıvısı örneklerinde ANG'nin de bulunduğu anjiyojenik belirteçleri incelemiştir. Tsolaki ve ark. (2012), bağ dokusu grefti uygulamalarında farklı cerrahi yöntemlerin klinik sonuçlarının karşılaştırılmasını amaçladıkları çalışmalarında DOS içeriğindeki ANG seviyelerini incelemiştir. Sakai ve ark. (2006), 7 sağlıklı ve 7 kronik periodontitisli hastayı dahil ettikleri çalışmalarında hem sağlıklı hem de periodontitisli bölgelerdeki DOS içeriğinde bulunan ANG seviyelerini incelemişler, DOS'un normal bileşenlerinden biri olan ANG'nin periodontal dokularda kronik enflamatuvar bir süreç geliştiğinde yani kronik periodontitis şartlarında daha yüksek seviyelere çıktığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, daha önceki çalışmalara benzer olarak periodontitisli grupların DOS ANG total miktar ve konsantrasyon değerleri sağlıklı gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar periodontal hastalık varlığında yeni damar oluşumunun arttığını ve bozulan damarsal bütünlüğe yanıt olarak vasküler yara iyileşmesinin uyarıldığı şeklinde yorumlanabilir.

Izzotti ve ark. (2004), farelerde yaptığı çalışmada sigaranın etkisi ile akciğer dokusundaki ANG seviyelerinin arttığını göstermişlerdir. Sigaranın periodontal dokuların damarlanma döngülerine etkisini DOS içeriğindeki ANG düzeylerini belirleyerek inceleyen ilk araştırma olan çalışmamızda; DOS ANG konsantrasyon değerleri ve DOS ANG total miktarları incelendiğinde, sigara içen periodontitisli grup, sigara içmeyen periodontitisli gruptan istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı gruplar arasında ise fark bulunmadı. Mirbod ve ark. (2001), dişetin damarlanma özelliklerini immunohistokimyasal olarak incelemişler ve sigara içenlerde içmeyenlere göre küçük kan damarlarının oranının büyük damarlara oranla daha fazla olduğunu ancak yoğunluk açısından bir farklılık olmadığını gözlemlemişlerdir. Sönmez ve ark. (2003), 38 sigara içen ve 36 içmeyen bireyin dişetinde damarlanma yoğunluğu bakımından herhangi bir fark bulamamışlardır. Çalışmamızın verilerine göre yeni damar oluşumunda kilit role sahip olan ANG'nin DOS içeriğindeki miktarları

yorumlandığında; sigara kullanımı ile periodontal dokularda periodontitis varlığında yeni damar oluşumunun arttığı ve vasküler tamirin uyarıldığı, sağlıklı koşullarda ise sigaranın yeni damar oluşumuna ve damarsal yara iyileşmesine etkisinin olmadığı görülmüştür.

VE-Cad; endotel hücreleri bağlantı bölgeleri arasında bulunan, endotel hücre kontaktlarının bütünlüğü ve aktivitesini düzenlemede ana belirleyici faktör olan endotele özgü bir adezyon molekülüdür. VE-Cad aracılı adezyon, vasküler geçirgenlik ve lökositlerin damar dışına çıkışının kontrolü açısından önemlidir (Vestweber, 2008). VE-Cad kompleksinin bozulması, endotelyal dejenerasyonun bir işareti olarak değerlendirilmektedir (Michaud ve ark., 2006; Barbieri ve Weksler, 2007; Barbieri ve ark., 2008). Barbieri ve ark. (2008), tütün dumanına maruz kalan farelerin kalp endotelinde VE-Cad parçalanması nedeni ile bir bariyer disfonksiyonu olduğunu göstermişlerdir. Michaud ve ark. (2006), sigara içenlerin periferik kanlarından elde edilen endotel öncü hücreleri ile yaptıkları in vitro çalışmalarında VE-Cad salgılanmasında azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Sakallıoğlu ve ark. (2015), periodontitis ve sigaranın etkisi ile DOS içeriğindeki VEGF ve VE-Cad düzeylerinin değişimi araştırdıkları çalışmalarında periodontitisli gruplarda sağlıklı gruplara göre hem konsantrasyon veri modelinde hem de total miktar veri modelinde daha yüksek seviyelerde VE-Cad miktarı elde etmişlerdir. Sigara içen ve sigara içmeyen periodontitisli gruplar arasında DOS VE-Cad seviyeleri arasında anlamlı fark olmasada da sigara içmeyen periodontitisli grubun değerinin daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Sigara içen ve sigara içmeyen sağlıklı grupları karşılaştırdıklarında ise; konsantrasyon veri modelinde sigara içen sağlıklı grubun DOS VE-Cad miktarı sigara içmeyen sağlıklı grubun değerinden fazla elde edilmişken, total miktar veri modelinde iki grup arasında fark bulmamışlardır. Çalışmamızda; hem konsantrasyon hem de total miktar veri modelinde benzer sonuçlar elde edilmiş olup, periodontitisli grupların DOS VE-Cad seviyeleri periodontal olarak sağlıklı gruplardan daha yüksek elde edildi. Sigara içen ve içmeyen periodontitisli gruplar arasında fark bulunmadı fakat sigara içmeyen periodontitisli grubun değeri daha yüksek elde edildi. Benzer şekilde sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı gruplar arasında da fark gözlenmedi. Periodontitis grupları arasında sigaranın etkisi ile bir fark oluşmamasının nedeni olarak, sigaranın VE-Cad artışına etkisinin enflamatuvar süreç tarafından maskelenmesi olabileceği düşünüldü. Endotelyal hücreler arasındaki birleşim bölgelerinin stabilizasyonunu sağlayarak vasküler bütünlüğün sağlanması ve

sürdürülmesinde önemli bir protein olan VE-Cad, ancak yıkıcı bir enflamatuvar süreç salınımına izin verdiğinde serum ya da vücut sıvılarında tespit edilebilmektedir. Çalışmamızda sağlıklı gruplar arasında sigara etkisi ile fark gözlenememesinin sebebi olarak sağlıklı koşullarda DOS'a VE-Cad geçişinin yetersiz olması olarak değerlendirildi (Harris ve Nelson, 2010).

DOS miktarı mikrosirkülasyon ile ilişkilidir. Mikrosirkülasyon damar sayısı, damar yapısı ve damar geçirgenliği ile enflamatuvar unsurların toplamından oluşan ve etkilenen bir yapıdır. Etkin derecesi değişebilmekle beraber sigaranın tam olarak hangi noktada bozukluk yarattığı çok net değildir. Bu yüzden damar geçirgenliğini gözlemlenebilmesi sunan bir molekül olan VE-Cad'ın incelenmesi damar yüzeyinde geçirgenliği artırıcı adezyon çözümleri olup olmadığına dair bir ipucu vermesi açısından önemlidir. VE-Cad molekülünün hem periodontitis varlığında hem de sağlıklı koşullarda sigara içen ve içmeyen bireylerin dokularında benzer bulunması sigaranın damarsal doku üzerindeki negatif etkisinin primer olarak adezyon molekülleri üzerinden olmadığını düşündürmektedir. DOS total hacim miktarlarının artması veya azalması, VE-Cad sonuçları ile paralel seyretmesi de bu noktayı işaret ediyor olabilir.

Çalışmamızdaki bulgular değerlendirildiğinde hipotezimizi destekler nitelikte periodontitis etkisi ile DOS ANG ve VE-cad seviyelerinin arttığı, dolayısıyla periodontal vaskülarizasyonun periodontal enflamasyondan etkilendiği gösterilmiştir. Sigaranın ise periodontal enflamasyon varlığında DOS ANG seviyesini artırdığı fakat periodontal olarak sağlıklı şartlar altında etkisinin olmadığı, DOS VE-cad seviyesini ise hem periodontitis varlığında hem de periodontal olarak sağlıklı şartlarda etkilemediği saptanmıştır.

Sigara içen hasta gruplarındaki hastalar değerlendirilirken serum kotinin seviyelerine bakılmamış olması çalışmamızın bir limitasyonu olarak görülebilir. Daha önce yapılan birçok çalışmada serum ve idrarda bulunan kotinin düzeylerinin sigara tüketimiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Wewers ve ark., 2000; Benowitz ve ark., 2003; Underner ve ark., 2004; Johnstone ve ark., 2006). Bu nedenle hastalardaki kotinin düzeylerini ölçmedik ve kapsamlı referansları kullanmayı tercih ettik.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sigaranın periodontal dokulardaki damarlanma döngülerine zarar verdiğini, dolayısıyla da periodontal dokulardaki enflamatuvar olayları etkilediğini göstermek amacıyla damarlanma döngülerinde önemli rolü olan ANG ve VE-Cad'ın DOS'taki düzeylerini biyokimyasal olarak değerlendiren çalışmamızın sonuçlarına göre;

1. Pİ açısından; periodontitisli hastalarda Pİ sağlıklı hastalara göre daha yüksektir. Hem sağlıklı hem de periodontitisli hastalarda sigaranın Pİ üzerine etkisi yoktur.
2. Gİ açısından; periodontitisli hastalarda Gİ sağlıklı hastalara göre daha yüksektir. Periodontitisli hastalarda sigara içenlerde Gİ değeri sigara içmeyenlere göre daha düşüktür.
3. SCD ve KAS değerlerinde periodontitisli hastaların değerleri sağlıklı hastalardan yüksektir. Sigaranın ise periodontitisli gruplarda SCD ve KAS değerlerine etkisi yoktur.
4. DOS ANG değerlerinin sigara içen periodontitisli grupta sigara içmeyen periodontitisli gruba göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuç, periodontitis şartlarında sigara içenlerde içmeyenlere göre yeni damar oluşumunun daha fazla olduğu şeklinde yorumlanabilir.
5. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı gruplar arasında DOS ANG değerleri açısından fark yoktur. Bu veri değerlendirildiğinde, sağlıklı koşullarda sigara içenlerde ve içmeyenlerde yeni damar oluşumu yönünden fark olmadığı sonucuna varılabilir.
6. Periodontitisli grupların ANG konsantrasyon değerleri ve total miktarları sağlıklı gruplardan daha yüksektir. Hipotezimizi destekler şekilde periodontitis etkisi ile DOS ANG seviyesinin arttığı, dolayısıyla periodontal vaskülarizasyonun ve yeni damar oluşumunun periodontal enflamasyondan etkilendiği gösterilmiştir.
7. DOS VE-Cad değerleri periodontitisli gruplarda sağlıklı gruplardan daha yüksektir. Hipotezimizi destekler şekilde periodontitis etkisi ile DOS VE-Cad seviyesinin arttığı, dolayısıyla periodontal vaskülarizasyonun ve damar permeabilitesinin periodontal enflamasyondan etkilendiği gösterilmiştir.
8. Sigara içen ve içmeyen periodontitisli gruplar arasında ve sigara içen ve içmeyen sağlıklı gruplar arasında VE-Cad değeri yönünden fark bulunamamıştır. Sigaranın

hem periodontitis varlığında hem de sağlıklı koşullarda damar permeabilitesi üzerine etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

9. Daha ileri çalışmalarla yeni damar oluşumu ve damar permeabilitesini belirlemede faydalı olan farklı belirteçler kullanılarak periodontal dokuların damarsal döngüleri değerlendirilebilir.



KAYNAKLAR

- Abe T, Hara Y, Aono M. Penetration, clearance and retention of antigen en route from the gingival sulcus to the draining lymph node of rats. *J Periodont Res* 1991;26:429-439.
- Adams SA and Subramanian V. The angiogenins: an emerging family of ribonuclease related proteins with diverse cellular functions. *Angiogenesis* 1999;3:189–199.
- Alrowis R, Almoharib HS, AlMubarak A, Bhaskardoss J, Preethanath RS, Anil S. Oral fluid based biomarkers in periodontal disease - part 2. Gingival crevicular fluid. *J Int Oral Health* 2014 Sep;6(5):126-135.
- American Academy of Periodontology. Tobacco use and the periodontal patient (position paper). *J Periodontol* 1996;67:51-56.
- Andriopoulou P, Navarro P, Zanetti A, Lampugnani MG, Dejana E. Histamine induces tyrosine phosphorylation of endothelial cell-to-cell adherens junctions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2286–2297.
- Arai H, Nomura Y, Kinoshita M, Shimizu H, Ono K, Goto H, Takigawa M, Nishimura F, Washio N, Kurihara H, Murayama Y. Response of human gingival fibroblasts to prostaglandins. *J Periodont Res* 1995;30:303-311.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4(1):1-6.
- Armitage GC. Commentary: evolution and application of classification systems for periodontal diseases - a retrospective commentary. *J Periodontol* 2014;85(March):369-371.
- Ausprunk DH, Falterman K, Folkman J. The sequence of events in the regression of corneal capillaries. *Lab Invest* 1978;38:284-296.
- Ausprunk DH, Folkman J. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res* 1977;14:53-65.
- Austin GW, Cuenin MF, Hokett SD, Peacock ME, Sutherland DE, Erbland JF, Billman MA. Effect of nicotine on fibroblast β 1 integrin expression and distribution in vitro. *J Periodontol* 2001;72.4:438-444.
- 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;25:297-305.
- Bar TH, Wolf JR. The formation of capillary basement membrane during internal vascularization of the rat's cerebral cortex. *Z Zellforsch* 1972;133:231-248.

- Barbieri SS, Ruggiero L, Tremoli E, Weksler BB. Suppressing PTEN activity by tobacco smoke plus interleukin-1 β modulates dissociation of VE-cadherin/beta-catenin complexes in endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:732–738.
- Barbieri SS, Weksler BB. Tobacco smoke cooperates with interleukin-1 β to alter beta-catenin trafficking in vascular endothelium resulting in increased permeability and induction of cyclooxygenase-2 expression in vitro and in vivo. *FASEB J* 2007;21:1831–1843.
- Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000* 2006;40.1:29-49.
- Bascones A, Munoz-Corcuera M, Noronha S, Mota P, Bascones-Ilundain C, Campo-Trapero J. Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009;14(12):680-685.
- Becerik S, Öztürk VÖ, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *J Periodontol*. 2012 Oct;83(10):1304-1313.
- Becit N, Ceviz M, Kocak H, et al. The effect of vascular endothelial growth factor on angiogenesis. An experimental study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001;22:310-316.
- Benowitz NL, Pomerleu OF, Pomereu CS, Jacop P. Nicotine metabolite ratio as of cigarette a predictor consumption. *Nicotine Tob Res* 2003;5:621–624.
- Benowitz NL. Clinical pharmacology of nicotine. *Annu Rev Med* 1986;37:2132.
- Bergström J, Eliasson S, Dock J. Exposure to smoking and periodontal health. *J Clin Periodontol* 2000;27:61–68.
- Bergström J, Eliasson S. Cigarette smoking and alveolar bone height in subjects with high standard of oral hygiene. *J Clin Periodontol* 1987;14:466–469.
- Bergström J. Cigarette smoking as risk factor in chronic periodontal disease. *Community Dent Oral Epidemiol* 1989;17:245-247.
- Bergström J. Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease. *Odontol* 2004;92(1):1-8.
- Bergström JAN, Persson L, Preber H. Influence of cigarette smoking on vascular reaction during experimental gingivitis. *Eur J Oral Sci* 1988;96(1):34-39.
- Bilginer HM. Sigara içenlerde periodontal durum ve sigaranın cerrahi olmayan tedavi üzerine etkisinin klinik radyografik ve histopatolojik olarak uzun dönem değerlendirilmesi. Doktora tezi. Ankara üniversitesi sağlık bilimleri enstitüsü. Ankara. Doktora tezi. 2000.

- Blaser J, Triebel S, Kopp C, Tschesche H. A highly sensitive immunoenzymometric assay for the determination of angiogenin. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993;31:513–516.
- Boström L, Bergström J, Dahlen G, Linder LE. Smoking and subgingival microflora in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2001;28:212-219.
- Bravi L, Dejana E, Lampugnani MG. VE-cadherin at a glance. *Cell Tissue Res* 2014;355(3):515-522.
- Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple ILC. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol* 2004;31(7):515-521.
- Calsina G, Ramon JM, Echeverria JJ. Effects of smoking on periodontal tissues. *J Clin Periodontol* 2002;29:771-776.
- Carbone D. Smoking and cancer. *Am J Med* 1992;93(1A):13-7.
- Carmeliet P, Collen D. Molecular Basis of Angiogenesis: Role of VEGF and VE-Cadherin. *Ann N Y Acad Sci* 2000;902.1:249-264.
- Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature* 2011;473.7347:298-307.
- Cavagni J, Soletti AC, Gaio EJ, Rösing CK. The effect of dexamethasone in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. *Braz Oral Res*, 2005;19(4):290-294.
- Chapple CC, Kumar RK, Hunter N. Vascular remodelling in chronic inflammatory periodontal disease. *J Oral Pathol Med* 2000;29:500-506.
- Cuff MJ, McQuade MJ, Scheidt MJ, Sutherland DE, Van Dyke. The presence of nicotine on root surfaces of periodontally diseased teeth in smokers. *J Periodontol* 1989;60:564-569.
- 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* 1998;15:638-32.
- 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;17(3):159-164.
- Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol* 2000 1997;14(1):12-32.

- Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol* 2000 1997;14:12-32.
- Dejana E, Orsenigo F, Lampugnani MG. The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability. *J Cell Sci* 2008;121:2115–2122.
- Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000 2003;31:55-76.
- Demirkaya C. Sigara içen ve içmeyen bireylerin radyografik alveol kemigi yüksekliğinin ve cerrahi olmayan periodontal tedaviye verdikleri yanıtın karşılaştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü. İstanbul. Doktora tezi. 1997.
- Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontol* 2000 2003;31:135-166.
- Engelbrecht SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB: GCF IL-1 β profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2002;29:48-53.
- Erdemir EO, Duran I, Haliloglu S. Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004;31:99-104.
- Esser S, Lampugnani MG, Corada M, Dejana E, Risau W. Vascular endothelial growth factor induces VE-cadherin tyrosine phosphorylation in endothelial cells. *J Cell Sci* 1998;111:1853–1865.
- Feldman RS, Bravacos JS, Rose CL. Association between smoking different tobacco products and periodontal disease indexes. *J Periodontol* 1983;54:481–487.
- Fett JW, Strydom DJ, Lobb RR, Alderman EM, Bethune JL, Riordan JF and Vallee BL. Isolation and characterization of angiogenin, an angiogenic protein from human carcinoma cells. *Biochem* 1985;24:5480-5486.
- Flemming TF. Periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4(1):32-37.
- Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992;267:10931-10934.
- Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *New Eng J Med* 1971;285:1182–1186.
- Gamal AY, Bayomy MM. Effect of cigarette smoking on human PDL fibroblasts attachment to periodontally involved root surfaces in vitro. *J Clin Periodontol* 2002; 29.8:763-770.
- Gamble JR, Matthias L, Meyer G. Regulation of in vitro capillary tube formation by anti-integrin antibodies. *J Cell Biol* 1993;121:921-943.

- Ganz T. Angiogenin: an antimicrobial ribonuclease. *Nat Immunol* 2003;4(3):213-4.
- Gao X, Xu Z. Mechanisms of action of angiogenin. *Acta Biochim Biophys Sin* 2008;40:619-624.
- Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a reappraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res* 2010;89:1349-1363.
- Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol* 2000 2013;62(1):59-94.
- Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol* 1996;67(10s):1041-1049.
- Gerritsen ME, Bloor CM. Endothelial cell gene expression in response to injury. *FASEB J* 1993;7:523-532.
- Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 β and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent* 2004;32(7):511-520.
- Graswinckel JEM, van der Velden U, van Winkelhoff AJ, Hoek FJ, Loos BG. Plasma antibody levels in periodontitis patients and controls. *J Clin Periodontol* 2004;31:562-568.
- Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 2008;79(8):1585-1591.
- Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000 2003; 31: 32-42.
- Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol* 1994;65:260-267.
- Grossi, SG, Genco RJ, Machtei EE. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol* 1995;66:23-29.
- Güneri P, Ünlü F, Yeşilbek B, Bayraktar F, Kokuludağ A, Hekimgil M, Boyacıoğlu H. Vascular endothelial growth factor in gingival tissues and crevicular fluids of diabetic and healthy periodontal patients. *J Periodontol* 2004;75(1):91-97.
- Haber J, Kent RL. Cigarette smoking in periodontal practice. *J Periodontol* 1992;63:100-106.
- Haber J. Smoking is a major risk factor for periodontitis. *Curr Opin Periodontol* 1994;1:12-18.

- Haerian A, Adonogianaki E, Mooney J, Docherty J.P, Kinane DF. Gingival crevicular stromelysin, collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases levels in healthy and diseased sites. *J Clin Periodontol* 1995;22:505-509.
- Haffajee AD, Socransky SS, Lindhe J, Kent RL, Okamoto H, Yoneyama T. Clinical risk indicators for periodontal attachment loss. *J Clin Periodontol* 1991;18(2):117-125.
- Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J Clin Periodontol* 2001;28:283–295.
- Harris ES, Nelson WJ. VE-cadherin: at the front, center, and sides of endothelial cell organization and function. *Curr Opin Cell Biol* 2010;22:651–658.
- Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 1997;14(1):202–215.
- Hart TC, Shapira L, Van Dyke TE. Neutrophil defects as risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol* 1994;65(5):521-529.
- Hausmann E, Raisz LG, Miller WA. Endotoxin: Stimulation of bone resorption in tissue culture. *Science* 1970;168:862-864.
- Hedin CA, Ronquist G, Forsberg O. Cyclic nucleotide content in gingival tissue of smokers and non-smokers. *J Periodontal Res* 1981;16(3):337-343.
- Hinrichs JE ve Novak MJ. Classification of Diseases and Conditions Affecting the Periodontium. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, editors. Carranza's clinical periodontology. 11. Ed., St. Louis; Elsevier Inc. 2012; 34-51.
- Hock JM, Nuki K. A vital microscopy study of morphology of normal and inflamed gingiva. *J Periodontol* 1978;49:343– 350.
- Hollinger JO, Schmitt JM, Hwang K, Soleymani P, Buck D. Impact of nicotine on bone healing. *J Biomed Mater Res* 1999;45.4:294-301.
- Hooper LV, Stappenbeck TS, Hong CV, Gordon JI. Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nat Immunol* 2003;4:269–273.
- Horton JE, Oppenheim JJ, Mergenhagen SE. A role for cell-mediated immunity in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 1974;45: 351-360.
- Hu G-F, Riordan JF and Vallee BL. Angiogenin promotes invasiveness of cultured endothelial cells by stimulation of cell-associated proteolytic activities. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91(25):12096–12100.
- Hu G-F, Strydom DJ, Fett JW, Riordan JF and Vallee BL. Actin is a binding protein for angiogenin. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90(4):1217–1221.

- Hu GF, Riordan JF, Vallee BL. A putative angiogenin receptor in angiogenin-responsive human endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci* 1997;94(6):2204-2209.
- Hu GF, Riordan JF. Angiogenin enhances actin acceleration of plasminogen activation. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;197(2):682-687.
- Hyman JJ, Reid BC. Epidemiologic risk factors for periodontal attachment loss among adults in the United States. *J Clin Periodontol* 2003;30(3):230-237.
- Ilzecka J. Cerebrospinal fluid angiogenin level in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Clin Croat* 2008;47:77-79.
- Ishikawa I, Nakashima K, Koseki T, Nagasawa T, Watanabe H, Arakawa S, Nitta H, Nishihara T. Induction of the immune response to periodontopathic bacteria and its role in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* 1997;14(1):79-111.
- Izzotti A, Cartiglia C, Longobardi M, Bagnasco M, Merello A, You M, et al. Gene expression in the lung of p53 mutant mice exposed to cigarette smoke. *Cancer Res* 2004;64(23):8566-72.
- Jeffcoat MK, Reddy MS. A comparison of probing and radiographic methods for detection of periodontal disease progression. *Curr Opin Dent* 1991;1:45-51.
- Johnson GK, and Organ CC. Prostaglandin E2 and interleukin-1 concentrations in nicotine-exposed oral keratinocyte cultures. *J Periodontal Res* 1997;32.5:447-454.
- Johnson GK, Guthmiller JM. The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontol 2000* 2007;44:178-194.
- Johnson GK, Hill M. Cigarette smoking and periodontal patient. *J Periodontol* 2004;752:196-209.
- Johnson RB, Serio FG, Dai X. Vascular endothelial growth factors and progression of periodontal disease. *J Periodontol* 1999;70:848-852.
- Johnstone E, Berowitz N, Cargill A, Jacob R, Hinks L, Day I, Walton R. Determinants of the rate of nicotine metabolism and effects on smoking behavior. *Clin Pharmacol Ther* 2006;80:319-330.
- Kieran D, Sebastia J, Greenway MJ, King MA, Connaughton D, Concannon CG, Fenner B, et al. Control of motoneuron survival by angiogenin. *J Neurosci* 2008;28:14056-14061.
- Kinane DE, Lindhe J. Chronic Periodontitis. Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 4 th ed. Oxford; Blackwell Publishing Ltd. 2003; 209-215.

- Kinane DF, Chestnutt IG. Smoking and periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11:356-365.
- King TV, Vallee BL. Neovascularisation of the meniscus with angiogenin. An experimental study in rabbits. *J Bone Joint Surg Br* 1991;73:587–590.
- Kishimoto K, Liu S, Tsuji T, Olson KA, Hu GF. Endogenous angiogenin in endothelial cells is a general requirement for cell proliferation and angiogenesis. *Oncogene* 2005;24:445-456.
- Klokkevold PR, Mealey BL. Relationship between periodontal disease and systemic health. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, editors. *Carranza's clinical periodontology*. 11. Ed., St. Louis; Elsevier Inc. 2012; 303-319.
- Koide M, Nishizawa S, Yamamoto S, Yamaguchi M, Namba H, Terakawa S. Nicotine exposure, mimicked smoking, directly and indirectly enhanced protein kinase C activity in isolated canine basilar artery, resulting in enhancement of arterial contraction. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25:292–301.
- Konerding MA, VanAckern C, Steinberg F, Streffer C. Combined morphological approaches in the study of network formation in tumor angiogenesis. In: *Angiogenesis: key principles*. Steiner R, Weisz PB, Langer R, editors. Basel: Birkhauser Verlag 1992;40-58.
- Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol* 2000 1997;14(1):33-53.
- Kornman KS. Patients are not equally susceptible to periodontitis: does this change dental practice and the dental curriculum?. *J Dent Edu* 2001;65(8):777-784.
- Koutroubakis IE, Xidakis C, Karmiris K, Sfiridaki A, Kandidaki E, Kouroumalis EA. Serum angiogenin in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2004;49:1758–1762.
- Kurtis B, Tuter G, Serdar M, Akdemir P, Uygur C, Firatli E et al. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor- alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2005;76:1849-1855.
- Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1098(1):216-229.
- 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.
- Lebargy F, Benhammou K, Morin D, Zini R, Urien S, Bree F, Bignon J, Branellec A, Lagrue G. Tobacco smoking induces expression of very high affinity nicotine

- binding sites on blood polymorphonuclear cells. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1056-1063.
- Lee HS, Lee IS, Kang TC, Jeong GB, Chang SI. Angiogenin is involved in morphological changes and angiogenesis in the ovary. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257:182–186.
- Li S, Sheng J, Hu JK, Yu W, Kishikawa H, Hu MG, Shima K. Ribonuclease 4 protects neuron degeneration by promoting angiogenesis, neurogenesis, and neuronal survival under stress. *Angiogenesis* 2013;16:387–404.
- Liekens S, De Clercq E, Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochem Pharmacol* 2001;61(3):253-70.
- Linden GJ, Mullally BH. Cigarette smoking and periodontal destruction in young adults. *J Periodontol* 1994;65:718–723.
- Lipari WA, Blake LC, Zipkin I. Preferential response of the periodontal apparatus and the epiphyseal plate to hydrocortisone and fluoride in the rat. *J Periodontol* 1974;45(12):879-890.
- Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sir Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol* 1986;13(5):431-440.
- Lu Q, Sakhatsky P, Grinnell K, Newton J, Ortiz M, Wang Y, Rounds S. Cigarette smoke causes lung vascular barrier dysfunction via oxidative stress-mediated inhibition of RhoA and focal adhesion kinase. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011;301; L847–L857.
- MacFarlane GD, Herzberg MC, Wolff LF, Hardie NA. Refractory periodontitis associated with abnormal polymorphonuclear leukocyte phagocytosis and cigarette smoking. *J Periodontol* 1992;63.11:908-913.
- Martinez-Canut P, Lorca A, Magan R. Smoking and periodontal disease severity. *J Clin Periodontol* 1995;22:743-749.
- Marx JL. The 23-million-dollar quest pays off. *Science* 1985;230:161.
- Mathur A, Michalowicz BS. Cell-mediated immune system regulation in periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997;8: 76-89.
- Mavropoulos A, Aars H, Brodin P. Hyperaemic response to cigarette smoking in healthy gingiva. *J Clin Periodontol* 2003;30:214-221.
- Mavropoulos A, Brodin P, Rösing CK, Aass AM, Aars H. Gingival blood flow in periodontitis patients before and after periodontal surgery assessed in smokers and nonsmokers. *J Periodontol* 2007;78:1774-1782.

- McLaughlin WS, Lovat FM, Macgregor IDM, Kelly PJ. The immediate effects of smoking on gingival fluid flow. *J Clin Periodontol* 1993;20(6):448-451.
- Meikle MC, Hembry RM, Holley J, Horton C, McFarlane CG, Reynolds JJ. Immunolocalization of matrix metalloproteinases and TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteinases) in human gingival tissues from periodontitis patients. *J Periodont Res* 1994;29:118-126.
- Michaud SE, Dussault S, Haddad P, Groleau J, Rivard A. Circulating endothelial progenitor cells from healthy smokers exhibit impaired functional activities. *Atherosclerosis* 2006;187:423–432.
- Mirbod SM, Ahing SI, Pruthi VK. Immunohistochemical study of vestibular gingival blood vessel density and internal circumference in smokers and nonsmokers. *J Periodontol* 2001;72:1318-1323.
- Morelli T, Neiva R, Nevins ML, McGuire MK, Scheyer ET, Oh TJ, Giannobile WV. Angiogenic biomarkers and healing of living cellular constructs. *J Dent Res* 2011;90(4):456-462.
- Morelli T, Stella M, Barros SP, Marchesan JT, Moss KL, Kim SJ, Yu N, Aspiras MB, Ward M, Offenbacher S. Salivary biomarkers in a biofilm overgrowth model. *J Periodontol* 2014;85(12):1770-1778.
- Moroianu J and Riordan JF. Nuclear translocation of angiogenin in proliferating endothelial cells is essential to its angiogenic activity. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91(5):1677–1681.
- Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H. Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 2004;31:267-272.
- Mullally BH, Linden GJ. Molar furcation involvement associated with cigarette smoking in periodontal referrals. *J Clin Periodontol* 1996;23:658–661.
- Nakao S, Fuji A, Niederman R. Alteration of cytoplasmic Ca²⁺ in resting and stimulated human neutrophils by short-chain carboxylic acids at neutral pH. *Infect Immun* 1992;60:5307-5311.
- 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;21:479-483.
- Needleman. Aging and the Periodontium. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. *Carranza's clinical periodontology*. 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007;93-98.

- Nibali L, Fedele S, D'Aiuto F, Donos N. Interleukin-6 in oral diseases: a review. *Oral Dis* 2012 Apr;18(3):236-243.
- Novak MJ, Novak KF, Preshaw PM. Smoking and Periodontal Disease. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, editors. *Carranza's clinical periodontology*. 11. Ed., St. Louis; Elsevier Inc. 2012; 294-301.
- Novak MJ, Novak KF. Chronic Periodontitis. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, editors. *Carranza's clinical periodontology*. 11. Ed., St. Louis; Elsevier Inc. 2012; 160-168.
- Offenbacher S, Odle B, Van dyke T. The microbial morphotypes associated with periodontal health and adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1985;12:736-749.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996;1(1):821-878.
- Özkavaf A, Aras H, Huri CB, Mottaghian-Dini F, Tözüm TF, Etikan I, Çağlayan F. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *J Oral Sci* 2000;42(4):231-238.
- Özmeriç N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004 May;343(1-2):1-16.
- Pabst MJ, Pabst KM, Collier JA, Coleman TC, Lemons-Prince ML, Godat MS, Babu JP. Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. *J Periodontol* 1995;66.12:1047-1055.
- Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: An introduction. *Periodontol 2000* 1997;14(1):9-11.
- 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;14(1):216-248.
- Page RC, Schroeder HE. Current status of the host response in chronic marginal periodontitis. *J Periodontol* 1981;52:477-489.
- Palmer R, Soory M. Modifying Factors. Lindhe J, Land NP, Karring T, editors. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 5th Ed., Oxford; Blackwell Publishing Ltd. 2008; 307-327.
- Palmer RM, Stapleton JA, Sutherland G, Coward PY, Wilson RF, Scott DA. Effect of nicotine replacement and quitting smoking on circulating adhesion molecule profiles (sICAM-1, sCD44v5, sCD44v6) *Eur J Clin Invest* 2002;32:852-857.
- Pan SC, Wu LW, Chen CL, Shieh SJ, Chiu HY. Angiogenin expression in burn blister fluid: implications for its role in burn wound neovascularization. *Wound Repair Regen* 2012;20:731-739.

- Pannekoek WJ, van Dijk JJ, Chan OY. Epac1 and PDZ-GEF cooperate in Rap1 mediated endothelial junction control. *Cell Signal* 2011;23:2056–2064.
- Papapanou PN. Periodontal diseases:Epidemiology. *Ann Periodontol* 1996;1:1-36.
- 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;71:58-42.
- Paweletz N, Knierim M. Tumor-related angiogenesis. *Crit Rev Oncol Hematol* 1989;9:197-242.
- Payne JB, Johnson GK, Reinhardt RA, Dyer JK, Maze CA, Dunning DG. Nicotine effects on PGE2 and IL-1 β release by LPS-treated human monocytes. *J Periodontal Res* 1996;31.2:99-104.
- Persson L, Bergström J, Gustafsson A, Asman B. Tobacco smoking and gingival neutrophil activity in young adults. *J Clin Periodontol* 1999;26(1):9-13.
- Pessoa ES, Melhado RM, Theodoro LH, Garcia VG. A histologic assessment of the influence of low-intensity laser therapy on wound healing in steroid-treated animals. *Photomed Laser Surg* 2004;22(3):199-204.
- Philips GD, Whitehead RA, Knighton DR. Initiation and pattern of angiogenesis in wound healing in the rat. *Am J Anat* 1991;192:257-262.
- Pihlstrom BL. Measurement of attachment level in clinical trials: probing methods. *J Periodontol* 1992;63(12s):1072-1077.
- Preber H, Bergström J, Linder LE. Occurrence of periopathogens in smoker and non-smoker patients. *J Clin Periodontol* 1992;19.9: 667-671.
- Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol* 2011;38:60-84.
- Ramon JM, Echeverria JJ. Effects of smoking on periodontal tissues. *J Clin Periodontol* 2002;29(8):771-776.
- Raulin LA, McPherson III JC, 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;59.5:318-325.
- Rezavandi K, Palmer R, Odell E, Scott D, Wilson R. Expression of ICAM-1 and Eselectin in gingival tissues of smokers and non-smokers with periodontitis. *J Oral Pathol and Med* 2002;31:59-64.
- Rifkin DB, Gross JL, Moscatelli D, Jaffe E. Proteases and angiogenesis: production of

- plasmino- gen activator and collagenase by endothelial cells. In: Pathobiology of the endothelial cell. Nossel H, Vogel HJ, editors. New York: Academic Press 1982;191-197.
- Rivera-Hildago F. Smoking and periodontal disease. *Periodontol 2000* 2003;32:50-58.
- Rotenberg S. Blood flow, tissue thickness, and molecular changes during connective tissue graft early healing. The Ohio State University. Ohio. Doktora tezi. 2010.
- Ryder MI, Fujitaki R, Lebus S, Mahboub M, Faia B, Muhaimin D, Hyun W. Alterations of neutrophil L-selection and CD18 expression by tobacco smoke: implications for periodontal diseases. *J Periodontal Res* 1998;33.6:359-368.
- Saglie FR, Smith CT, Newman MG, Carranza FA, Pertuiset JH, Cheng L, Auil E, Nisengard RJ. The presence of bacteria in the oral epithelium in periodontal disease II. Immunohistochemical identification of bacteria. *J Periodontol* 1986;57(8):492-500.
- Sakai A, Ohshima M, Sugano N, Otsuka K, Ito K. Profiling the cytokines in gingival crevicular fluid using a cytokine antibody array. *J Periodontol* 2006;77(5):856-64.
- Sakallıoğlu EE, Ayas B, Sakallıoğlu U, Aıkgöz G, Cağlayan F. Osmotic pressure and vasculature of gingiva in periodontal disease. *Arch Oral Biol* 2006;51:505–511.
- Sakallıoğlu EE, Sakallıoğlu U, Lütııoğlu M, Pamuk F, Kantarcı A. Vaskular endotelial cadherin and vaskuler endotelial growth factor in periodontitis and smoking. *Oral Diseases*. 2015;21:263-269.
- Salvi GE, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* 1997;14(1):173-201.
- Sanz M, Newman MG, Quirynen M. Advances diagnostic techniques. . In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. Carranza’s clinical periodontology. 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007;579-601.
- Schulte D, Küppers V, Dartsch N, Broermann A, Li H, Zarbock A, Kamenyeva O, Kiefer F, Khandoga A, Massberg S, Vestweger D. Stabilizing the VE-cadherin-catenin complex blocks leukocyte extravasation and vascular permeability. *EMBO J* 2011;30:4157-4170.
- Schweitzer KS, Hatoum H, Brown MB. Mechanisms of lung endothelial barrier disruption induced by cigarette smoke: role of oxidative stress and ceramides. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011; 301: L836–L846.
- Seymour RA. Effects of medications on the periodontal tissues in health and disease. *Periodontol 2000* 2006;40(1):120-129.
- Shapiro R, Strydom DJ, Olson KA, Vallee BL. Isolation of angiogenin from normal

- human plasma. *Biochem* 1987;26:5141–5146.
- Shegiham A. Periodontal disease and oral cleanliness in tobacco smokers. *J. Periodontol* 1971;42:259-263.
- Sholley MM, Ferguson GP, Seibel HR, Montour JL, Wilson JD. Mechanisms of neovascularization. Vascular sprouting can occur without proliferation of endothelial cells. *Lab Invest* 1984;51:624-634.
- Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Sena-Esteves M, Curry WT. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol* 2008;10:1470–1476.
- Sönmez S, Canda T, Özkara AD. Quantitative evaluation of the vasculature and fibronectin localization in gingival connective tissue of smokers and non-smokers. *J Periodontol* 2003;74:822-829.
- Spong CY, Ghidini A, Sherer DM, Pezzullo JC, Ossandon M, Eglinton GS. Angiogenin: a marker for preterm delivery in midtrimester amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176: 415–418.
- Stein SH, Green BE, Scarbecz M. Augmented transforming growth factor- β 1 in gingival crevicular fluid of smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004;75(12):1619-1626.
- Stoltenberg JL, Osborn JB, Pihlstrom BL, Herzberg MC, Aeppli DM, Wolff LF, Fischer GE. Association between cigarette smoking, bacterial pathogens, and periodontal status. *J Periodontol* 1993;64.12:1225-1230.
- 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;71.5:717-722.
- Tello-Montoliu A, Patel JV, Lip GY. Angiogenin: a review of the pathophysiology and potential clinical applications. *J Thromb Haemost* 2006;4(9):1864-74.
- Theiss SM, Boden SD, Hair G, Titus L, Morone MA, Ugbo J. The effect of nicotine on gene expression during spine fusion. *Spine* 2000;25.20:2588-2594.
- Thomas MV, Puleo DA. Infection, inflammation, and bone regeneration: a paradoxical relationship. *J Dent Res* 2011;90:1052-1061.
- Tipton DA, Dabbous MK. Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 1995;66:1056-1064.

- Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey. *J Periodontol* 2000;71:743-751.
- Tonetti MS. Cigarette smoking and periodontal diseases: etiology and management of disease. *Ann Periodontol* 1998;3(1):88-101.
- Torres de Heens GL, Kikkert R, Aarden LA, Van Der Velden U, Loos BG. Effects of smoking on the ex vivo cytokine production in periodontitis. *J Periodontol Res* 2009;44(1):28-34.
- Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol* 1995;66:852-859.
- Tsai CC, McArthur W, Baehni PC, Evian C, Genco RJ, Taichman NS. Serum neutralizing activity against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin in juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1981;8:338-348.
- Tsolaki I. Connective Tissue Grafts and Surgical Delay: Clinical and Biochemical Characterization. The Ohio State University. Ohio. Doktora tezi. 2012.
- Tsuji T, Sun Y, Kishimoto K, Olson KA, Liu S, Hirukawa S, Hu GF. Angiogenin is translocated to the nucleus of HeLa cells and is involved in ribosomal RNA transcription and cell proliferation. *Cancer Res* 2005;65:1352-1360.
- Turnbull B. Smoking and periodontal disease. A review. *JNZ Soc Periodontol* 1995;79:10-15.
- Underner M, Ingrand P, Favreau M, Mura P, Meurice JC. Usefulness of biological markers in the evaluation of smoking at the first visit of a smoking cessation program. *Rev Mal Respir* 2004;21:705-710.
- Vestweber D. VE-cadherin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28(2):223-232.
- Villasante A, Pacheco A, Pau E, Ruiz A, Pellicer A, Garcia-Velasco JA. Soluble vascular endothelial-cadherin levels correlate with clinical and biological aspects of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2008;23:662-667.
- Villasante A, Pacheco A, Pau E, Ruiz A, Pellicer A, Garcia-Velasco JA. Soluble vascular endothelial-cadherin levels correlate with clinical and biological aspects of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2008;23:662-667.
- Walters JD, Miller TJ, Cario AC, Beck FM, Marucha PT. Polyamines found in gingival fluid inhibit chemotaxis by human polymorphonuclear leukocytes in vitro. *J Periodontol* 1995;66:274-278.
- Wendell KJ, Stein SH. Regulation of cytokine production in human gingival fibroblasts following treatment with nicotine and lipopolysaccharide. *J Periodontol* 2001;72:1038-1044.

- Wewers ME, Ahijevych KL, Dhatt RK, Guthrie RM, Kuun P, Mitchell L, Chen MS. Cotinine levels in Southeast Asian smokers. *Nicotine Tob Res* 2000;2:85–91.
- Xu ZP, Tsuji T, Riordan JF, Hu GF. The nuclear function of angiogenin in endothelial cells is related to rRNA production. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;294(2):287–292.
- Yakovlev S, Gao Y, Cao C, Chen L, Strickland DK, Zhang L, Medved L. Interaction of fibrin with VE-cadherin and anti-inflammatory effect of fibrin-derived fragments. *J Thromb Haemost* 2011;9:1847-1855.
- Yıldız N. Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects. *Toxicol* 2004;43:619-632.
- Yin WT, Pan YP, Lin L. Association between IL-1 α rs17561 and IL-1 β rs1143634 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. *Genet Mol Res* 2016;15(1)-15017325.
- Yücel ÖÖ, Berker E, Gariboglu S, Otlu H. Interleukin-11, interleukin-1 β , interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 2008;35:365-370.
- Zambon JJ, Grossi SG, Machtei EE, Ho AW, Dunford R, Genco RJ. Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. *J Periodontol* 1996;67:1050–1054.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Bengi KURT AYDIN

Doğum Yeri: Antalya

Doğum Tarihi: 05.02.1990

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu-Ahmet Bileydi İlköğretim okulu, 2004

Antalya Anadolu Lisesi, 2008

Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2013

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, 2017

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, 2017

E-posta: bengi.bng@gmail.com