



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI ETİYOLOJİYE SAHİP DİŞETİ BÜYÜMELERİNDE
FİBROTİK KOMPONENTİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

ONUR EROĞLU

DOKTORA TEZİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

PROF. DR. LEYLA KURU

2022-İSTANBUL

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Onur Eroğlu

İmza

I. TEŞEKKÜR

Doktora eğitim sürecinde desteğini hiç esirgemeyen, mesleki ve hayat konusunda deneyimlerini benimle paylaşan, birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum çok saygıdeğer doktora danışman hocam Prof. Dr. Leyla KURU'ya,

Araştırmanın laboratuvar aşamasını gerçekleştiren ve bu süreçte bilgilerini özveriyle benimle paylaşan M.Ü. Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı başkanın sayın Prof. Dr. Feriha ERCANA'

Çalışmalarında desteğini esirgemeyen,pratik ve teorik eğitimimde her zaman yol gösterici olan değerli hocam Prof. Dr. Başak DOĞAN' a,

Araştırmanın yapılmasında hem fikren hem uygulama olarak büyük katkısı olan değerli hocam Dr. Öğr. Hafize Öztürk Özener'e

Araştırmada histoloji aşamasının gerçekleştirilmesini sağlayan yardımlarını ve desteğini esirgemeyen M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimler Ana Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Dr. Öğr. Esin AK'a

Mesleki eğitimimde büyük katkısı bulunan değerli hocalarım Doç.Dr. Ömer Birkan AĞRALI, Dr. Öğr. Kemal Naci KÖSE, Dr. Öğr. Hatice Selin YILDIRIM'a

Doktora eğitim sürecinde tanıştığım Marmara Periodontolojinin bana kattığı en güzel hediye olan yoldaşım , en büyük destekçim ve hayat arkadaşım Dt. Ece YETİŞ'e

Doktora eğitimimi sıcak ve keyifli bir ortamda geçirmesini sağlayan eski ve yeni tüm çalışma arkadaşlarıma ve Periodontoloji A.D. personeline,

Kararlarıma her zaman güvenen ve arkamda duran, , bugünleri gelmemde büyük katkıyı sağlayan annem Fatma Yılmaz EROĞLU ,babam Mehmet EROĞLU, ablam Songül ELMAS ve abim Orhan Ozan EROĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-DRP-241018-0576 numaralı proje ile desteklenmiştir.

II. İÇİNDEKİLER

Sayfa No

I. TEŞEKKÜR.....	i
II. İÇİNDEKİLER.....	ii
III. KISALTMA ve SİMGELER.....	v
IV. ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
V. RESİMLER LİSTESİ.....	viii
VI. TABLOLAR LİSTESİ.....	x
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER.....	5
4.1. Dişeti Büyümesi.....	5
4.2 Dişeti Büyümelerinin Sınıflandırması.....	6
4.3. Kronik Enflamatuvar Dişeti Büyümesi.....	8
4.4. İlaça Bağlı Dişeti Büyümesi.....	9
4.4.1. Dişeti büyümesine neden olan ilaçlar.....	11
4.4.2. Kalsiyum kanal blokerler.....	12
4.4.3. Dihidropridin grubu ilaçlar.....	13
4.4.4. İlaça bağlı dişeti büyümesini prevalansı.....	14
4.4.5. İlaça bağlı dişeti büyümesinde risk faktörleri.....	15
4.4.5.1.Yaş.....	15
4.4.5.2. Cinsiyet.....	16
4.4.5.3. İlacın dozu ve konsantrasyonu.....	16
4.4.5.4. İlaçların kombine kullanılması.....	17
4.4.5.5 Periodontal değişkenler.....	18
4.4.5.6. Genetik faktörler.....	19

	Sayfa No
4.4.6. İlaça bağılı dişeti büyümesinin patogenezi.....	20
4.4.7. İlaça bağılı dişeti büyümesinin histolojisi.....	21
4.4.8. Kalsiyum kanal blokerlerin farmakolojik özellikleri.....	21
4.5. Herediter Gingival Fibromatozis.....	23
4.6. Dişeti Büyümlerinin Tedavisi.....	25
4.6.1. Cerrahi olmayan periodontal tedavi.....	25
4.6.2. Cerrahi periodontal tedavi.....	26
4.6.2.1. Konvansiyonel gingivektomi.....	28
4.6.2.2. Flap operasyonu.....	28
4.7. Fibrozis.....	28
4.7.1. Dişeti büyümlerinde Fibrozis.....	30
4.7.2. Transforme edici büyüme faktörü- β	31
4.7.3. Smad proteinleri.....	33
5. GEREÇ ve YÖNTEM.....	39
5.1. Hasta Popülasyonu.....	39
5.2. Çalışma Seçimi.....	39
5.3. Çalışma Grupları.....	40
5.4. Çalışma Planı.....	41
5.5. Klinik İndeks ve Ölçümler.....	42
5.5.1. Plak indeks.....	42
5.5.2. Gingival indeks.....	43
5.5.3. Sondalama derinliği.....	44
5.5.4. Sondalamada kanama.....	44
5.5.5. Dişeti büyümesi indeksi.....	44
5.5.5.1. Fotoğrafik dişeti büyümesi indeksi.....	44
5.5.5.2. Çalışma modelinde ölçülen dişeti büyüme indeksi.....	45
5.6. Klinik İşlemler.....	48
5.6.1. Dişeti doku örneklerinin elde edilmesi.....	48

	Sayfa No
5.7. Laboratuvar İşlemleri.....	49
5.7.1. Hemotoksilen-eosin ve masson boyama	49
5.7.2. İmmünohistokimyasal boyama.....	49
5.8. İstatistiksel Analiz.....	51
6. BULGULAR.....	52
6.1. Tüm Hastaların Demografik Verileri.....	52
6.2. Klinik Değerlendirme.....	53
6.3. Histopatolojik Değerlendirme.....	55
6.3.1. Histolojik kalitatif bulgular.....	55
6.3.2. Histolojik kantitatif bulgular.....	59
6.4. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	62
6.4.1. TGF-β1 ekspresyonu kalitatif bulgular.....	62
6.4.2. TGF-β1 ekspresyonu kantitatif bulgular.....	66
6.4.3. SMAD-2 ekspresyonu kalitatif bulgular.....	66
6.4.4. SMAD-2 ekspresyonu kantitatif bulgular.....	71
6.4.5. SMAD-7 ekspresyonu kalitatif bulgular.....	71
6.4.6. SMAD-7 ekspresyonu kantitatif bulgular.....	76
7. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	79
8.KAYNAKLAR.....	97
9. EKLER.....	118
10. ÖZGEÇMİŞ.....	125

III. KISALTMA VE SİMGELER

α : Alfa

APA: Amerikan periodontoloji akademisi

APF: Amerikan periodontoloji federasyonu

α -SMA: Alfa düz kas aktin

CTGF: Bağ dokusu büyüme faktörü

β : Beta

COPT: Cerrahi olmayan periodontal tedavi

CBP: CREB bağlanma proteini

δ : Delta

DHP: Dihidropridin

4-HPPH: (4hydroxylphenyl)-5-phenylhydantoin

DOS: Dişeti oluğu sıvısı

LVA: Düşük voltajla aktive edilmiş

EDB: Enflamatuvar dişeti büyümesi

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

FDBİ: Fotoğrafik dişeti büyümesi indeksi

γ : Gama

Gİ: Gingival indeks

HE: Hematoksilen-Eosin

HGF: Herediter gingival fibromatosis

HLA: İnsan lenfosit antijeni

IL-1 β : İnterlökin-1 β

IL-6: İnterlökin-6

I-SMAD: İnhibitör Smad

İBDB: İlacı bağılı dişeti büyümesi

KKB: Kalsiyum kanal bloker

κ: Kappa

KMP: Kemik morfogenetik protein

KLK: Küçük latent kompleks

LİP: Latensi ilişkili peptit

MH1: *Mad homolog 1*

MH2: *Mad homolog 2*

µm: Mikrometre

MAD: *Mothers Against Decapentaplegic geni*

MDBİ: Modelde ölçülen dişeti büyümesi indeksi

MMP: Matriks metalloproteinaz

mm: Milimetre

MDP.: Mikrobiyal dental plak

Co-SMAD: Ortak Aracı Smad

Pİ: Plak indeks

R-SMAD: Reseptör Düzenleyici Smad

SARA: Smad Arabuluculu Reseptör Aktivatörü

CYP 450: Sitokrom P450

SD: Sondalama derinliğı

SK: Sondalamada kanama

SMA: *Smilar to mother against geni*

SMURF: SMAD Ubikinyon Düzenleyici Faktör

TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü

PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

HVA: Yüksek voltajla aktive edilmiş



IV. ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. İlaça bağlı dişeti büyümelerinde enflamasyon ve fibrozis arasındaki ilişki

Şekil 2. Kalsiyum kanallarının alt birimleri ve yapıları

Şekil 3. Transforme edici büyüme faktörü β 'nın (TGF- β) sentezlenmesi, salgılanması ve aktivasyonu

Şekil 4. Smad proteinin yapısal organizasyonu

Şekil 5. SMAD proteinin TGF- β ligandı ile aktivasyonu

Şekil 6. SMAD proteininin hücre içerisindeki aktivitesi

Şekil 7. Çalışma modelinde ölçülen dişeti büyüme indeksinin dişeti ünitesinin görünümü

Şekil 8. Çalışma modelinde dişeti ünitesinin vertikal değerlendirme

Şekil 9. Çalışma modelinde dişeti ünitesinin horizontal değerlendirme

V. RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Kronik enflamatuvar dişeti büyümesi

Resim 2. İlaça bağlı dişeti büyümesi görülen hastanın ağız içi vestibül görünümü

Resim 3. Herediter Gingival Fibromatosis görülen hastanın palatinal bölgeden ağız içi görüntüsü

Resim 4 (a,b). EDB grubunu temsilen bir hastaya ait hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış dişeti dokularının histolojik görüntüsü

Resim 4 (c,d). EDB grubunu temsilen bir hastaya ait masson trikrom ile boyanmış dişeti dokularının histolojik görüntüsü

Resim 5 (a,b). İBDB grubunu temsilen bir hastaya ait hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış dişeti dokularının histolojik görüntüsü

Resim 5 (c,d). İBDB grubunu temsilen bir hastaya ait masson trikrom ile boyanmış dişeti dokularının histolojik görüntüsü

Resim 6 (a,b). HGF grubunu temsil eden bir hastaya ait hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış dişeti dokularının histolojik görüntüsü

Resim 6 (c,d). HGF grubunu temsil eden bir hastaya ait masson trikrom ile boyanmış dişeti dokularının histolojik görüntüsü

Resim 7 (a). Kontrol grubunu temsil eden bir bireye ait hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış dişeti dokularının histolojik görüntüsü

Resim 7 (b,c). Kontrol grubunu temsil eden bir bireye ait masson trikrom ile boyanmış dişeti dokularının histolojik görüntüsü

Resim 8 (a-c). EDB grubunda TGF- β 1 immünohistokimyasal boyanma

Resim 9 (a-c). İBDB grubunda TGF- β 1 immünohistokimyasal boyanma

Resim 10 (a-c). HGF grubunda TGF- β 1 immünohistokimyasal boyanma

Resim 11 (a-c). Kontrol grubunda TGF- β 1 immünohistokimyasal boyanma

Resim 12 (a-c). EDB grubunda SMAD-2 immünohistokimyasal boyanma

Resim 13 (a-c). İBDB grubunda SMAD-2 immünohistokimyasal boyanma

Resim 14 (a-c). HGF grubunda SMAD-2 immünohistokimyasal boyanma

Resim 15 (a-c). Kontrol grubunda SMAD-2 immünohistokimyasal boyanma

Resim 16 (a-c). EDB grubunda SMAD-2 immünohistokimyasal boyanma

Resim 17 (a-c). İBDB grubunda SMAD-2 immünohistokimyasal boyanma

Resim 18 (a-c). HGF grubunda TGF- β 1 immünohistokimyasal boyanma

Resim 19 (a-c). Kontrol grubunda SMAD-2 immünohistokimyasal boyanma

Resim 20 (a). Negatif kontrol grubunda dişetinde immün boyama

Resim 20 (b). Pozitif kontrol gruplarında plasentada TGF- β 1 immün boyama

Resim 20 (c). Pozitif kontrol gruplarında plasentada SMAD-2 immün boyanması

Resim 20 (d). Pozitif kontrol gruplarında plasentada SMAD-7 immün boyanması

VI. TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Etiyopatogeneze göre dişeti büyümelerinin sınıflandırılması

Tablo 2. Lokalizasyonuna göre dişeti büyümelerinin sınıflandırılması

Tablo 3. Büyüklüğüne göre dişeti büyümelerinin sınıflandırılması

Tablo 4. Dişeti büyüme tiplerinin APA sınıflandırmasındaki yeri

Tablo 5. Dişeti büyüme tiplerinin APF-APA sınıflandırmasındaki yeri

Tablo 6. Kalsiyum kanal blokerlerinin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması

Tablo 7. Kalsiyum kanallarının sınıflandırılması

Tablo 8. Tüm hastalara ait demografik veriler

Tablo 9. Çalışma gruplarına ait başlangıç periodontal parametreler

Tablo 10: Çalışma gruplarına ait histopatolojik skorlama

Tablo 11. Çalışma gruplarının immünohistokimyasal analiz bulguları

Tablo 12. SMAD-7 antikoru 0 derecesinde boyanmasının gruplar arası ikili karşılaştırması

1. ÖZET

Farklı Etiyolojiye Sahip Dişeti Büyümelerinde Fibrotik Komponentin İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi

Doktora Öğrencisi: Onur EROĞLU

Danışman: Prof. Dr. Leyla KURU

Anabilim Dalı: Periodontoloji

Amaç: İlaça bağlı (İBDB), enflamatuvar (EDB) ve hereditör (HGF) etiyolojiye sahip dişeti büyümelerinin klinik ve transforme edici büyüme faktörü (TGF- β 1), SMAD-2 ve SMAD-7 ekspresyonlarının immünohistokimyasal olarak incelenmesi ve sistemik ve periodontal sağlıklı dokular ile karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya EDB, İBDB, HGF görülen hastalar ile periodontal olarak sağlıklı (kontrol grubu) bireyler olmak üzere toplam 46 kişi dahil edildi. Tüm çalışma gruplarında cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası plak indeksi (Pİ), gingival indeks (Gİ), sondalama derinliği, sondalamada kanama, fotoğraflık ve modelde ölçülen dişeti büyümesi indekslerini içeren periodontal klinik parametreler ölçüldü. Cerrahi periodontal tedavi esnasında eksize edilen dişeti dokularının histopatolojik ve TGF- β 1, SMAD-2 ve SMAD-7 molekülleri için immünohistokimyasal analizleri yapıldı.

Bulgular: Klinik değerlendirmede, EDB ve İBDB gruplarında Pİ ve Gİ değerleri hariç diğer klinik parametrelerin kontrol grubuna göre yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Toplam histopatoloji skoru EDB ve İBDB gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksekti ($p < 0,001$). İmmünohistokimyasal analiz sonucunda TGF- β 1, SMAD-2 ve SMAD-7 proteinlerinin boyanma dereceleri açısından gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0,05$).

Sonuç: Çalışmamız dişeti büyümesinde gözlenen boyutsal artışın epitel tabakasında kalınlaşma ve bağ dokusundaki artıştan kaynaklandığını göstermiştir. Ayrıca fibrozis mekanizmasında rol alan TGF- β 1, SMAD-2 ve SMAD-7'in dokularda tespit edilmesi dişeti büyümelerinde fibrotik içeriğin varlığını desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: Dişeti hiperplazisi, immünohistokimya, TGF-beta1, SMAD-2 protein, SMAD-7 protein

2. SUMMARY

Immunohistochemical Evaluation of the Fibrotic Component in Gingival Enlargements with Different Etiologies

PhD Student: Onur EROĞLU

Supervisor: Prof. Dr. Leyla KURU

Department: Periodontology

Aim: The aim of this study is to examine immunohistochemically the expression of transforming growth factor (TGF- β 1), SMAD-2 and SMAD-7 in gingival tissues of drug-induced (DIGE), inflammatory (IGE) and hereditary gingival fibromatosis (HGF) patients, investigate clinically and compare them with systemic and periodontally healthy tissues.

Material and Method: A total of 46 participants, including IGE, DIGE and HGF patients and periodontally healthy (control group) individuals were included in this study. Following nonsurgical periodontal treatment plaque index (PI), gingival index (GI), probing depth (PD), bleeding on probing (BOP), plaster model and photographic gingival enlargement (GE) scores were measured. The excised gingival tissues were obtained during periodontal surgery and used for histopathological and immunohistochemical analyses for TGF- β 1, SMAD-2 and SMAD-7.

Results: All clinical parameters of IGE and DIGE groups were statistically higher than the control group ($p < 0,05$) except for PI and GI values ($p > 0,05$). Histopathological analysis revealed that the total histopathologic score was significantly higher in the IGE and DIGE groups compared to the control group ($p < 0,001$). There was no significant difference among groups for TGF- β 1, SMAD-2 and SMAD-7 expressions ($p > 0,05$).

Conclusion: Our study revealed that the dimensional increase observed in GE was due to the epithelium thickening and the increase in the connective tissue. In addition, the detection of TGF- β 1, SMAD-2 and SMAD-7 in GE tissues proved the presence of fibrotic component in GE.

Key Words: Gingival hyperplasia, immunohistochemistry TGF- β 1, SMAD-2 protein, SMAD-7 protein

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Dişeti dokularında boyutsal artış olarak ifade edilen ve periodontal dokuları etkileyen birçok hastalık ve durumun ortak klinik bulgusu olan dişeti büyümeleri farklı karakteristik özelliklere sahiptir. Dişeti büyümesinin etiyolojisinde kronik enflamasyon, bazı ilaçların yan etkisi, genetik hastalık ve durumlar ve neoplazi yer almaktadır (Kantarci ve ark., 2019). Dişeti büyümesi tanımı literatürde ilk olarak 1856 yılında hereditör gingival fibromatosis (HGF) görülen bireylerde bildirilmiştir (Goddard, 1856). Farklı bir etiyolojiye dayanan ilaca bağlı dişeti büyümesi (İBDB) ilk olarak epilepsi tedavisinde fenitoin etken maddesi kullanımı sonucu 1939 yılında rapor edilmiştir (Kimball, 1939). Fenitoin üzerine yapılan çalışmaları takiben immünsupresiflerden siklosporin-A için 1983 ve kalsiyum kanal blokerlerden (KKB) dihidropridin (DHP) grubu nifedipin için 1984 yılında dişeti büyümesi yan etkisi vaka raporlarında bildirilmiştir (Rateitschak-Plüss ve ark., 1983; Lederman ve ark., 1984; Ramon ve ark., 1984). Diğer bir DHP türevi olan amlodipin kullanımına bağlı bildirilen ilk dişeti büyümesi vaka raporu olarak literatürdeki yerini almıştır (Seymour ve ark., 1994). Dişeti büyümesi üzerine yapılan araştırmalarda çoğunlukla dişeti büyümesinin kompleks patogenezi aydınlatmak için büyümenin etiyolojisini tanımlayan farklı sınıflandırma sistemleri kullanılmıştır. Bu sınıflandırmalarda farklı etiyolojiye sahip dişeti büyümesi tipleri ya dişeti hastalıklarının sınıflandırmasında doğrudan ya da bu hastalıkların klinik bir bulgusu olarak yer almıştır. Etiyolojik olarak farklılık gösteren dişeti büyümeleri patogenetik süreçler bakımından birbirinden ayrışsa da yapısal olarak enflamatuvar ve fibrotik içerik açısından benzerlikler taşımaktadır (Trackman ve Kantarci, 2015). Enflamatuvar içeriğin dişeti büyümelerinde seviyesi değişkenlik göstermekle beraber araştırmalar ortak olarak dişeti büyümelerinin şiddetini arttırdığını bildirmektedir (Thomason ve ark., 1992; Kantarci ve ark., 1999; Carranza ve Hogan, 2015). Dişeti büyümelerinde fibrotik doku değişimleri genellikle enflamasyonla beraber gözlenir. Ayrıca dişeti dokularında görülen fibrotik süreçlerde kronik enflamasyonun yanı sıra ilaç kullanımı, sistemik hastalıklar ve genetik faktörlerin etkisi olduğu bilinmektedir (Kantarci ve ark., 2019). Dişeti büyümelerinde fibrozis bu

bakımda birçok faktörün etkisi altındadır ve bu patogenezdaki rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Literatürde farklı etiyojolojiye sahip dişeti büyümelerinde patogenetik yollarda rol alan birçok biyobelirteç hücrel ve moleküler düzeyde farklı laboratuvar teknikleriyle incelenmiştir. İnterlökin-6 (IL-6) ve interlökin-1 β (IL- β) (Myrillas ve ark., 1999; Ganesh, 2016) gibi sitokinlerin ve trombosik kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) (Plemons ve ark., 1996; Kuru ve ark., 2004), fibroblast büyüme faktörü (FGF) (Saito ve ark., 1996; Kuru ve ark., 2004), transforme edici büyüme faktörü beta-1 (TGF- β 1) (Tipton ve Dabbous, 1998; Buduneli ve ark., 2001; Kuru ve ark., 2004; Nitulescu ve ark., 2012; Kose ve ark., 2020) ve bağ doku büyüme faktörü (CTGF) (Uzel ve ark., 2001; Nitulescu ve ark., 2012; Anand ve ark., 2018) gibi büyüme faktörlerinin; SMAD, alfa düz kas aktin (a-SMA) ve Ki-67(Sobral ve ark., 2012; Kim ve ark., 2013; Kim ve ark., 2015; Craitoiu ve ark., 2019; Eftekharian ve ark., 2019; Marconi ve ark., 2021) proteinlerinin ekspresyonun dokularda yüksek seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Bu biyobelirteçlerden biri olan TGF- β ,1 fibrotik bozukluklarda geniş bir patojenik role sahiptir. Fibroze karşı tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde, TGF- β sinyal iletim yollarının anlaşılması önemli bir yere sahiptir. Literatürde TGF- β 'nın fibrotik dişeti büyümeleriyle ilişkili olduğu bulunmuş olup hücrel düzeyde etkisini hangi mekanizmayla gösterdiği henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Farklı organlardaki fibroziste TGF- β 'nın hücrel düzeydeki etkisini SMAD proteinleri aracılığıyla gösterdiği bazı çalışmalarda ortaya konmuş olup dişeti fibrozisinde bu durumu araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Literatürden elde edilen bilgiler doğrultusunda, bu kesitsel çalışmada, dişeti fibrozisi mekanizmasında rolü olduğu düşünülen SMAD proteinlerinin fibrotik bileşen oranlarının değişiklik gösterdiği dişeti dokularında farklı olacağı hipotezi öne sürülmektedir. fibrotik içerik bakımından farklılık gösteren enflamatuvar dişeti büyümesi (EDB) ve İBDB görülen dokuların cerrahi olmayan periodontal tedavi (COPT) sonrası değişimini klinik olarak değerlendirmek ve dişeti dokuların fibrozis markerları açısından immünohistokimyasal olarak sağlıklı veya HGF tanısı konulan bireylerle karşılaştırılması amaçlandı.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Dişeti Büyümesi

Dişeti büyümesi, çeşitli faktörlerin etkisiyle hücre proliferasyonunun artması ve ekstraselüler matriksin aşırı üretimi ve birikmesi sonucu boyutsal olarak artış gösteren dişeti dokusunun patolojik durumudur. Dişeti büyümesinin etiyolojisinde rol alan faktörler enflamasyon, bazı ilaçların yan etkisi, sistemik hastalıklar, neoplastik ve hereditör durumlardır. Farklı etiyolojilere bağlı olarak büyümüş dişetinde farklı patolojik özellikler gözlenebilir. Bu nedenle farklı etiyolojik faktörlere belirlemek dişeti büyümesinin teşhis ve tedavisi açısından önemlidir. Dişeti büyümesi geçici ve geri dönüşümlü olabileceği gibi kronik ve geri dönüşümsüz de olabilir. Dişeti büyümesi görülen dokulardaki enflamasyon tipik olarak üç farklı yoldan ilerleyebilir: Bu ilerleme yolları, enflamasyonun tamamen çözünmesi ve doku bütünlüğünün restorasyonu (homeostaz); periodontal dokuların yıkımı ve ataşman kaybı (periodontitis); ve fibrozistir (Kantarci ve ark., 2019).

Literatürde dişeti büyümesi için dişeti hiperplazisi, dişeti hipertrofisi veya dişeti fibrozisi terimleri kullanılmıştır (Kantarci ve ark., 2019). Hiperplazi, dokulardaki hücre sayısının artışıyla beraber doku hacminde de artışın meydana gelmesidir. Hipertrofi ise hücrenin boyutsal olarak büyümesiyle doku hacminin ve boyutunun artışı ifade etmektedir. Patolojik mekanizmaları farklı olsa da her iki süreç birlikte de görülebilir. Fibrozis, bozulmuş yara iyileşmesi sürecinde hücre proliferasyonu, hücreler arası etkileşim, hücre-matriks etkileşimi, ekstraselüler matriks birikimi ve bağışıklık sisteminin cevabının bozulduğu patolojik bir süreçtir. Bu bağlamda, fibrozis patolojik bir lezyon olarak tanımlanabilirken, hiperplazi ve hipertrofi patolojik süreçler olarak görülebilir. Dişeti büyümesinde hipertrofik, hiperplazik veya fibrotik olarak görülen bu değişimler, farklı patogenetik durumları ifade eder ve birbirinden tam olarak ayırt edilemezler. Bu nedenle genel terminolojide “dişeti büyümesi” teriminin kullanılması tercih edilmektedir (Kantarci ve ark., 2019).

4.2. Dişeti Büyümelerinin Sınıflaması

Dişeti büyümesi tiplerinin tanısında ve sınıflandırmasında etiyopatogenez (Tablo 1), lokalizasyon ve dağılım (Tablo 2) ve büyüklük (Tablo 3) temel alınarak çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır (Carranza ve Hogan, 2015).

Tablo 1. Etiyopatogeneze göre dişeti büyümesi tiplerinin sınıflandırılması (Carranza ve Hogan, 2015 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

Dişeti büyümesi tipi	Tanımı
Enflamatuvar Büyüme	Akut
	Kronik
İlaça bağlı büyüme	Antikonvülzanlar
	İmmünsüpresif ilaçlar
	Kalsiyum kanal blokerler
Sistemik durumlarla ilişkili büyüme	Hamilelik
	Ergenlik
	Vitamin C eksikliği
	Plazma hücreli gingivitis
	Spesifik olmayan büyümeler (Pyojenik Granülom)
	Granümatöz hastalıklar (Wegener Granümatöz, Sarkoidozis)
Neoplastik büyümeler	İyi huylu tümörler
	Kötü huylu tümörler
Hereditör gingival fibromatozis	Farklı derecelerde yapışık dişetini de içeren büyümeler

Tablo 2. Lokalizasyonuna ve dağılımına göre dişeti büyümesinin sınıflandırılması (Carranza ve Hogan, 2015 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

Dişeti büyümesi tipi	Tanımı
Lokalize	Tek bir dişte veya diş grubundaki dişeti ile sınırlı
Generalize	Dişetlerinde yaygın görülen
Marjinal	Serbest dişeti kenarı ile sınırlı
Papiller	Yapışık dişeti ile sınırlı
Diffüz	Serbest dişeti, yapışık dişeti ve dişeti papilini içeren
Discrete	İzole saplı veya pedinküllü, tümör benzeri bir büyüme

Tablo 3. Büyüklüğüne göre dişeti büyümesinin sınıflandırılması (Carranza ve Hogan, 2015 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

Dişeti büyümesi	Tanımı
Derece 1	Büyümesi yok
Derece 2	İnterdental papillaya uzanan büyüme
Derece 3	İnterdental dişeti ve serbest dişetini içeren büyüme
Derece 4	Kurunun ¾'ünü veya tamamını kaplayan büyüme

American Periodontoloji Akademisi (APA) tarafından 1999 yılında yapılan dişeti hastalıklarının genel sınıflandırmasına göre dişeti büyümeleri farklı konu başlıkları altında yer almıştır (Tablo 4.). Dişeti büyümelerinin bazı tipleri ise dişeti hastalıklarının sınıflamaya dahil edilmemiştir (Armitage, 1999).

Tablo 4. Dişeti büyüme tiplerinin APA sınıflandırmasındaki yeri (Armitage, 1999 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

Dişeti Büyümesi Tipi	APA 1999 Sınıflandırması Konu Başlığı
İlaca bağlı dişeti büyümesi	Mikrobiyal dental plağa bağlı dişeti hastalıkları (İlaca bağlı dişeti hastalıkları)
Hereditör gingival fibromatozis	Plağa bağlı olmayan dişeti hastalıkları (Genetik kökenli dişeti lezyonları)

1999 yılından günümüze kadar yapılan bilimsel çalışmalardan elde edilen veriler, dişeti hastalıklarının sınıflandırılmasının bu bilgiler ışığında yeniden düzenlenmesi gerekliliğini doğurmuştur. Bu nedenle 2017 yılında Avrupa Periodontoloji Federasyonu (APF) ve APA öncülüğünde periodontal ve periimplant hastalık ve durumları yeniden gözden geçirilerek sınıflandırma güncellenmiştir (Caton ve ark., 2018).

Bu sınıflamada dişeti enflamasyonu ve dişeti büyümesinin kapsamı ve şiddeti tanımlanmıştır. Dişeti büyümesi tiplerinden sadece İBDB ve HGF güncel sınıflamada yer almıştır (Tablo 5.) (Holmstrup ve ark., 2018; Murakami ve ark., 2018).

Tablo 5. Dişeti büyüme tiplerinin APF-APA sınıflandırmasındaki yeri (Caton ve ark., 2018 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

Dişeti Büyümesi Tipi	APF-APA 2017 Sınıflandırması Konu Başlığı
İlaca bağlı dişeti büyümesi	Dental biyofilme bağlı gingivitis
Hereditör gingival fibromatozis	Dental biyofilme bağlı olmayan dişeti hastaları (Genetik kökenli dişeti lezyonları)

4.3. Kronik Enflamatuvar Dişeti Büyümesi

Enflamatuvar dişeti büyümesi'nin etiyolojisinde mikrobiyal dental plağın (MDP) birikmesi ve yüzeye tutunması bulunmaktadır. Bu nedenle EDB'si MDP'ı etkileyen kötü ağız hijyeni, hatalı restorasyonlar, çapraşık dişler, tırnak yeme ve kalem ısırma gibi kötü alışkanlıklar, anatomik anomaliler ve ortodontik apareyler gibi faktörlerden doğrudan etkilenmektedir (Gursoy ve ark., 2007; Kantarci ve ark., 2019). Herhangi bir sistemik durumun etkisi olmaksızın EDB sadece dişeti dokularında meydana gelen enflamasyon sonucu oluşmaktadır. Klinik olarak EDB, interdental papilla ve marjinal dişetinde belirgin bir şişlik olarak başlar, daha ileri aşamalarda ilgili bölgedeki dişlerin kordonunu kaplayana kadar boyutsal olarak artabilir (Resim 1). Ağızın belirli bölümünde lokalize veya tüm ağızda generalize olarak görülebilir. Akut enfeksiyon veya travma olmadığı sürece yavaş ve ağrısız olarak ilerler. İnterdental dişetinde veya serbest veya yapışık dişetinde ayrı veya birlikte görülebilir. Dişeti koyu kırmızı veya mavimsi kırmızı renktedir. Yumuşak ve parlak bir yüzeye sahip dişeti büyümesi kolayca kanar (Kantarci ve ark., 2019).



Resim 1. Kronik enflamatuvar dişeti büyümesi görülen hastanın ağız içi vestibül görünümü

4.4. İlaça Bağlı Dişeti Büyümesi

Bazı sistemik hastalıkların tedavisinde kullanılan antikonvülzan, immünsüpresif ve KKB gibi spesifik ilaçlar yan etki olarak dişeti büyümesine neden olurlar (Camargo ve ark., 2001; Kantarci ve ark., 2019). İlaça bağlı dişeti büyümesi (İBDB) ilk olarak 1939 yılında Kimball tarafından tanımlanmıştır (Kimball, 1939). İlaç alımının başlamasından sonraki ilk 3 ay içerisinde İBDB'nin semptomları ortaya çıkmakta (Agrawal, 2015; Fardal ve Lygre, 2015; Ramirez-Ramiz ve ark., 2017) ve büyüme plato evresine 9. ila 12. aylar arasında ulaşmaktadır (Ramirez-Ramiz ve ark., 2017).

Dişeti büyümesi yan etkisine sahip farklı grup ilaçların farmakolojik özellikleri farklı olmasına rağmen dişetinde benzer klinik sonuca neden olurlar. İlaça bağlı dişeti büyümesi (İBDB), sadece dişlerin var olduğu bölgelerde görülür ve ilgili bölgedeki dişler çekildiği zaman genellikle kendiliğinden kaybolur (Sanz, 2013). Başlangıçta dişlerin interdental papillasında lokalize, ağrısız, sıkı, nodüler ve horizontal yönde ilerleyen bir büyüme gözlemlenir (Ramirez-Ramiz ve ark., 2017). Daha sonra dişeti kenarında fasiyal ve lingual

yüzeyler boyunca ilerleyen büyüme komşu papillaya kadar uzanır (Sanz, 2013). Zaman içerisinde büyüme vertikal yönde devam ederek klinik kuronun büyük bir bölümünü kaplar; hatta şiddetli vakalarda klinik kuronun tamamını kaplayarak oklüzyona engel olabilir. Daha sıklıkla ağzın genelinde görülen İBDB, alt ve üst çene ön bölgelerde daha şiddetlidir (Resim 2).

İlave dişeti enflamasyonu varlığında, dişeti dokularında ödem, kanama, renk ve yüzey özelliklerinde değişimler meydana gelir. Dişeti enflamasyonunun olmadığı durumlarda dişeti büyümeleri fibrotik karakterdedir. Dişeti dokularında oluşan enflamasyon ve fibrozis; kullanılan ilacın dozuna ve tipine, oral hijyen seviyesine, genetik faktörlere ve çevresel etkilere bağlı olarak farklı derecelerde görülebilir (Carranza ve Hogan, 2015). Fenitoin, siklosporin A ve nifedipine bağlı dişeti büyümelerini hücresel ve yapısal özellikleri bakımından karşılaştıran bir çalışmada fenitoine bağlı dişeti büyümesinin en fazla fibrotik özellik gösterdiği bulunmuştur (Uzel ve ark., 2001). Nifedipine bağlı dişeti büyümesinde fibrozis ve enflamasyon dengeli bir şekilde dağılırken siklosporin A kaynaklı dişeti büyümesinde enflamasyonun fibrozisten daha baskın olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 1) (Uzel ve ark., 2001; Trackman ve Kantarci, 2015).



Resim 2. İlaça bağlı dişeti büyümesi görülen hastanın ağız içi vestibül görünümü



Şekil 1. İlaça bağlı dişeti büyümelerinde enflamasyon ve fibrozis arasındaki ilişki (Trackman ve Kantarci, 2015 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

4.4.1. Dişeti büyümesine neden olan ilaçlar

Dişeti büyümesine neden olan ilaçlar 3 temel gruba ayrılmaktadır. Bu ilaçlar antikonvülzanlar, immünsüpresifler ve KKBlerdir (Hallmon ve Rossmann, 1999).

Antikonvülzanlar, grand mal, temporal lob ve psikomotor nöbetlerin tedavisinde ilk olarak 1930’lu yıllarda kullanılmıştır (Dongari-Bagtzoglou ve ark., 2004). Bu ilaç grubundan olan fenitoin, epilepsi nöbetlerinin kontrolü için 1938 yılında kullanılmaya başlanmıştır (Merritt ve Putnam, 1938). O zamandan itibaren epilepsi nöbetini kontrol etmedeki etkinliği, düşük maliyeti ve kolay bulunabilirliği nedenleriyle fenitoin kullanımı günümüze kadar halen devam etmektedir. Fenitoin ilacının kullanımına bağlı bir yan etki olarak İBDB ilk defa 1939 yılında bildirilmiştir (Kimball, 1939). Fenitoinin dışında yetişkin hastalarda dişeti büyümesine neden olan antikonvülzan diğer ajanlar valproik asit, karbamazepin, fenobarbitonin ve vigabatrinidir (Dongari-Bagtzoglou ve ark., 2004).

Siklosporin A, organ reddinin önlenmesi ve otoimmün hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan güçlü bir immünsüpresiftir. Bu ilaç kullanımı sonrası dişeti büyümesi oluşumu ilk olarak Rateitschak-Pluss ve ark (Rateitschak-Plüss ve ark., 1983) tarafından 1983 yılında bildirilmiştir. Organ nakli hastalarında Siklosporin A kullanımı başarılı sonuçlar verse de yan etki olarak dişeti büyümesinin yanında böbrek ve kalp dokularında da fibrozis oluşumu gözlenmiştir (Dongari-Bagtzoglou ve ark., 2004)

Hipertansiyon, anjina pectoris, koroner arter spazmı ve kardiyak aritmilerin tedavisinde KKBler yaygın olarak kullanılmaktadır (Hallmon ve Rossmann, 1999). Bu ilaç grubunun

dişeti büyümesi yan etkisi ilk olarak 1984 yılında nifedipin kullanan hastalarda Ramon ve ark (Ramon ve ark., 1984) ve Lederman ve ark. (Lederman ve ark., 1984) tarafından gözlenmiştir. Daha sonra diltiazem, verapamil, amlodipin ve felodipin gibi diğer KKBleri için de bu istenmeyen yan etki bildirilmiştir (Ellis ve ark., 1999; Marshall ve Bartold, 1999; Dongari-Bagtzoglou ve ark., 2004).

4.4.2. Kalsiyum kanal blokerler

Kalsiyum kanal blokerler (KKB); damar düz kasları ve kalp kası hücrelerinin hücre zarında ve kardiyak düğümlerde (sinoatriyal ve atriyoventriküler nodüller) bulunan kalsiyum kanallarına bağlanarak kalsiyum iyonlarının akışına engel olurlar. Bu ilaçların kalp kası hücrelerindeki etkisi ilk olarak 1969 yılında Fleckenstein ve ark. (Fleckenstein ve ark., 1969) tarafından bildirilmiştir. Kalsiyum kanallarının tıkanması; damar düz kaslarının gevşemesine, vazodilatasyona, kalp atış hızında ve sayısında azalmaya yol açar. Damar düz kaslarının gevşemesi, sistemik vasküler direnci azaltarak arteriyal kan basıncının azalmasına neden olur. Kalp ve kan damarları üzerindeki bu etkileri nedeniyle, KKBler hipertansiyon, angina ve supraventriküler kalp aritmilerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Livada ve Shiloah, 2014).

Kimyasal yapılarına göre dihidropiridin (DHP), fenilalkilamin ve benzotiyazepin olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır (Tablo 6). Kalsiyum kanal bloker (KKB) ilaçların hastalıkların tedavisinde kullanılmaları ve zaman içinde geliştirilmeleri bir süreç almıştır. İlk geliştirilen ve piyasaya sürülen ilaç grubu birinci jenerasyon olarak adlandırılmıştır. Birinci jenerasyon KKBler; fenilalkilamin grubundan verapamil, benzotiyazepin grubundan diltiazem ve DHP grubundan nifedipindir. Bu jenerasyon içerisinde ilk üretilen KKB verapamildir (Fleckenstein ve ark., 1969). Daha sonra diltiazem ve nifedipinin hızlı salınım yapan formu ortaya çıkmıştır (Wang ve ark., 2017). Kalsiyum kanal blokerlerin (KKB) birinci jenerasyonunun taşikardi, yüz kızarması, dişeti büyümesi gibi olumsuz yan etkileri nedeniyle ikinci jenerasyon olarak DHP grubundan nifedipinin yavaş salınım yapan formu, amlodipin, felodipin, nitrendipin, isradipin geliştirilmiş ve kullanıma

sunulmuştur (Pieper, 1996; Ellis ve ark., 1999; Livada ve Shiloah, 2014). İkinci jenerasyon KKBler vazodilatasyon etkilerinin güçlü olmaları, yavaş etki mekanizmaları ve hipotansiyon etkilerinin fenilalkilamin ve benzotiyazepine göre daha uzun olması sebebiyle DHP grubu ilaçlardan oluşmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda ikinci jenerasyon ilaçların da birinci jenerasyonda ilaçların gösterdiği yan etkileri koruduğu gözlenmiştir (Dougall ve McLay, 1996; Toyo-Oka ve Nayler, 1996; Livada ve Shiloah, 2014).

Tablo 6. Kalsiyum kanal blokerlerinin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması (Hallmon ve Rossmann, 1999 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

Dihidropiridinler	Fenilalkilaminler	Benzotiyazepinler
Nifedipin	Verapamil HCL	Diltiazem
Amlodipin		
Felodipin		
Nitrendipin		
İsradipin		
Nikardipin		
Barnidipin		

4.4.3. Dihidropiridin grubu ilaçlar

Hipertansiyon, anjina pectoris ve Raynaud fenomeni durumlarında DHP’ler arter ve arteriyollerde vazodilatasyona neden olarak esas terapötik etkilerini gösterirler. Bu ilaç grubu kalbin kasılma gücünü minimal düzeyde etkiler. İlk üretilen ve birinci jenerasyon olarak adlandırılan DHP grubu ilaç, nifedipinin saf formudur. Nifedipinin bu formu kanda pik seviyesine 20 ila 45 dakika içerisinde ulaşır; 4 ila 8 saat arasında metabolize edilir. İlacın yarılanma ömrü kısadır ve kan basıncını hızlı bir şekilde düşürür. Dokularda hızlı salınım yapan bu ilaç formu bazı bireylerde hipotansiyona neden olduğu için kontraendikedir (Khot S. ve ark., 2021).

İkinci jenerasyon DHP'ler ilk jenerasyona oranla daha iyi bir farmakokinetik profil ve artmış vasküler selektivite göstermektedir. Nifedipin, amlodipin ve felodipinin yavaş salınım yapan formları, benidipin, manidipin, nilvadipin ve isradipin bu grupta yer almaktadır. Üçüncü jenerasyon DHP'lerden olan barnidipinin ise reseptör bağlanma süresi ve yarılanma ömrü diğer jenerasyonlardan daha uzundur (Khot S. ve ark., 2021; Wang ve ark., 2017).

4.4.4. İlaça bağlı dişeti büyümelerinin prevalansı

Dişeti büyümesine neden olan her ilaç kategorisi için İBDB prevalansı farklıdır. Prevalans oranları, tıp hekimi ile diş hekimlerinin dişeti büyümesini değerlendirmesindeki farklılıklar, dişeti büyümesini ölçen farklı indekslerin kullanılması, tedavi edilen sistemik hastalık, hasta yaşı, eşzamanlı olarak kullanılan diğer ilaçlar, hastanın periodontal durumu, ilacın kullanım süresi ve dozu gibi faktörlerden etkilenmektedir. Bu nedenle prevalans oranlarının doğru bir şekilde belirlenmesi oldukça zordur (Dongari-Bagtzoglou ve ark., 2004).

Yapılan araştırmalarda yetişkin bireylerde İBDB prevalans oranları kullanılan ilaç gruplarına göre farklılık göstermektedir. Fenitoin ile tedavi edilen yetişkin hastalarda prevalansı %0 ile %84.5 arasında değişim gösterirken %50 ortalamaya sahip olduğu bildirilmiştir (Ball ve ark., 1996; Hallmon ve Rossmann, 1999; Majola ve ark., 2000; Dongari-Bagtzoglou ve ark., 2004). Diğer bir antikonvülsan olan valproik asit ile tedavi edilen hastalarda dişeti büyümesi nadirdir ve bildirilen vaka sayısı sınırlıdır (Marshall ve Bartold, 1999). Farklı bir ilaç grubu olan siklosporin A bağlı dişeti büyümesi için rapor edilen prevalans oranları %25 ile %80 arasında değişim göstermektedir (Dongari-Bagtzoglou ve ark., 2004). KKB'ler grubu antihipertansif bir ilaç olan nifedipinin neden olduğu dişeti büyümesinin prevalansını inceleyen çalışmalarda %21 ile %83 arasında değişkenlik görülmüştür (Fattore ve ark., 1991; Barclay ve ark., 1992; Nery ve ark., 1995). Ayrıca bir epidemiyolojik çalışmada, nifedipin kullanımı sonrası bireylerin yaklaşık %6'sında dişeti büyümesi gözlemlenmiştir (Ellis ve ark., 1999). Amlodipin, felodipin veya verapamil gibi diğer KKB'lerinin prevalansının nifedipine göre daha düşük olduğu

bildirilmiştir (Ellis ve ark., 1999; Marshall ve Bartold, 1999). Amlodipin, verapamil ve diltiazeme bağlı dişeti büyümelerinin prevalansını inceleyen çalışmalarda sırasıyla %3,3, %4,1 ve %74 oranları bildirilmiştir (Fattore ve ark., 1991; Miller ve Damm, 1992; Jorgensen, 1997).

İlaca bağlı dişeti büyümesi (İBDB) prevalansının oranları çocuklarda ve ergenlerde yetişkinlere göre yüksek olduğu bildirilmiştir (Seymour ve ark., 1996; Doufexi ve ark., 2005). Antikonvülzan bir ilaç olan fenitoine bağlı dişeti büyümesinin toplum bazında araştırıldığı bir çalışmada genç bireylerin İBDB'ye daha eğilimli olduğu ve genç bireylerde oral hijyen seviyesinin azalmasıyla dişeti büyümesinin şiddetinin arttığı bildirilmiştir (Casetta ve ark., 1997). İmmünsüpresif bir ilaç olan siklosporin A tedavisi gören çocuklarda dişeti büyümesinin prevalansının yetişkinlerden %52 daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Seymour ve ark., 2000) Kalsiyum kanal blokerlere (KKB) bağlı dişeti büyümesi çocuklarda nadiren görülür, çünkü bu ilaçlar genellikle daha yaşlı bireylerde kullanılmaktadır (Doufexi ve ark., 2005). Bu ilaçların genç bireylerde kullanımı sınırlı olduğu için dişeti büyümesi prevalansı konusundaki bilgiler yetersizdir.

4.4.5.İlaca bağlı dişeti büyümelerinde risk faktörleri

4.4.5.1.Yaş

Yaşa bağlı olarak hormonal seviyedeki değişimler, dişeti fibroblastlarının ilaca karşı hassasiyetini etkilemektedir. Dişeti dokularında androjen metabolizması sonucu testosteron aktif metaboliti olan 5a-dihidrotestosterona dönüşür. Çocuklarda ve ergenlerde dolaşımdaki artmış aktif androjen seviyeleri dişeti enflamasyonunu ve dişeti büyümesini şiddetlendirir. Testosteronun aktif metaboliti dişeti fibroblastlarının alt popülasyonlarına etki göstererek kolajen sentezinin artmasına ve kolajenaz aktivitesinin azalmasına neden olur (Sooriyamoorthy ve ark., 1990; Seymour ve ark., 2000).

Dişeti fibroblastlarının testosteronu metabolize etme yeteneğinin fenitoin kullanımı ile arttığı gösterilmiştir (Sooriyamoorthy ve ark., 1988). Fenitoine benzer şekilde siklosporin A ve nifedipine bağlı dişeti büyümelerinde de fibroblastlarda 5a-dihidrotestosteron

miktarında artış olduğu bildirilmiştir (Sooriyamoorthy ve ark., 1990). Buna paralel şekilde siklosporin A kullanan çocuklarda, dişeti büyümesinin erişkinlere göre %52 daha fazla olduğu gösterilmiştir (Seymour ve ark., 2000). Diğer yandan, KKB'lerin daha yaşlı bireyler tarafından kullanılmaları bu ilaç kategorisinde yaştan bir risk faktörü olarak değerlendirilmesini imkansız kılmıştır (Seymour, 2006).

4.4.5.2. Cinsiyet

Cinsiyetin İBDB için bir risk faktörü olup olmadığını araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Cinsiyet, fenitoin bağlı dişeti büyümesi için bir risk faktörü olarak değerlendirilmemektedir (Ellis ve ark., 1999).

Kalsiyum kanal blokerlere (KKB) bağlı dişeti büyümesinde ise cinsiyetin önemli bir rolü olduğu ve erkeklerde kadınlardan 3 kat daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Ancak bu durum da, erkeklerin kadınlardan daha fazla kardiovasküler hastalık prevalansına sahip olmasıyla açıklanmıştır (Ellis ve ark., 1999).

4.4.5.3. İlacın dozu ve konsantrasyonu

Çeşitli sistemik hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların günlük alım dozları, dokularda biriken ilaç konsantrasyonunu etkilemektedir. Bu durumdan yola çıkarak yapılan çalışmalarda büyümeye neden olan ilaçların dozları ve dokudaki konsantrasyonları ile İBDB oluşumu ve ilerlemesi arasında ilişki araştırılmış ve ilacın belirli bir eşik değer konsantrasyonunda dişeti büyümesini tetiklediği görüşü üzerinde durulmuştur (Seymour ve ark., 2000) Ancak dişeti büyümesine neden olan ilaçların yarılanma ömrü, dokularda dağılımı ve konsantrasyonları, pik seviyesine ulaşma ve eliminasyon süreleri farklılık göstermektedir. Tükürük, dişeti oluğu sıvısı (DOS) ve plazmadaki ilaç konsantrasyonu ve ilaç dozu ile İBDB arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmalar ilaçların bu özellikleri sebebiyle farklı sonuçlar ortaya koymaktadır (Modeer ve ark., 1992; Ellis ve ark., 1993; Thomason ve ark., 1995; Seymour, 2006).

Dişeti büyümesi görülen bireylerin DOS'unda fenitoin, nifedipin ve amlodipin varlığı tespit edilmiştir (Seymour ve ark., 1994; Guncu ve ark., 2006; Guncu ve ark., 2007; Kose ve ark., 2020). Güncü ve ark. (Guncu ve ark., 2006) yaptıkları bir çalışmada fenitoin kullanan bireylerde ilacın DOS ve plazma konsantrasyonu ile dişeti büyümesi şiddeti arasındaki ilişki araştırılmış ve dişeti büyümesi şiddeti ile DOS'taki fenitoin konsantrasyonu arasında anlamlı ilişki saptanamazken plazma konsantrasyonu ile pozitif korelasyon bulunmuştur. Buna karşın DOS örneğın alındığı bölgeler arasındaki farklılık, hastanın yaşı ve enflamasyon varlığı gibi faktörlerin etkisi sebebiyle dişeti büyümesinin şiddeti ile KKB olan nifedipinin DOS'taki konsantrasyonu arasında bir ilişki saptanamamıştır (Ellis ve ark., 1993; Thomason ve ark., 1995; Guncu ve ark., 2006). Ayrıca ilacın dozunun vücut ağırlığına göre bireysel farklılık göstermesi nedeniyle dişeti dokularında büyümeye sebebiyet verecek ilaç dozunun eşik değerin belirlenmesinde vücut ağırlığının da etkili bir faktör olabileceğı bildirilmiştir (Seymour, 2006). Yapılan çalışmalarda dişeti büyümesinin şiddeti ile günlük fenitoin, siklosporin A ve nifedipin dozu arasındaki ilişki incelenmiş fakat ilacın dozu ile dişeti büyümesi arasında net bir ilişki bulunamamıştır (Seymour ve Heasman, 1988; Seymour ve Jacobs, 1992; Thomason ve ark., 1997; Dongari-Bagtzoglou ve ark., 2004).

4.4.5.4. İlaçların kombine kullanılması

İlaçların kombine kullanımının dişeti büyümesi şiddeti üzerindeki etkisi tartışmalı olmakla ilaçların sinerjistik etkisinden bahsedilmektedir (O'Valle ve ark., 1995). Organ nakli olan hastalarda siklosporin A kullanımının neden olduğu hipertansiyonu kontrol etmek ve nefrotoksisiteyi azaltmak amacıyla nifedipin de kullanılmaktadır. Bu kombinasyonun dişeti büyümesi prevalansının her bir ilacın tek başına kullanımından daha yüksek olduğu görülmüştür (Thomason ve ark., 1993; Thomason ve ark., 1996; Wilson ve ark., 1998; Seymour ve ark., 2000). Bunun yanında, siklosporin A ile birlikte kullanılan prednizolon ve azatiyoprinin antienflamatuvar özellikleri nedeniyle dişeti enflamasyonunun baskılandığı ve dişeti büyümesi şiddetinde azalma olduğu görülmüştür (Wilson ve ark., 1998).

Fenitoin, karaciğerde CYP 450 enzimi tarafından 5-(4hydroxylphenyl)-5-phenylhydantoin (4-HPPH)'e metabolize edilmektedir. Bu metabolit dişeti büyümesi oluşumunu tetiklemektedir. Fenobarbiton, primidon ve karbamazepin gibi diğer antikonvülzanlar, fenitoinle beraber kullanıldıklarında karaciğerdeki CYP 450 enzimini etkileyerek, 4-HPPH metabolitini artırdığı gözlenmiştir. Bu durum, birden fazla antikonvülzan ilacın beraber kullanımı sonucu dişeti büyümesi prevalansının artmasına neden olmaktadır (Seymour, 2006).

4.4.5.5 Periodontal değişkenler

Dişeti dokularındaki MDP kaynaklı enflamatuvar değişimin, dişeti büyümesine katkısı olan bir faktör mü yoksa dişeti büyümesinin bir sonucu mu olduğu netlik kazanmamıştır. Plağın bu konudaki etkisi hala tartışma konusu olsa da oral hijyen seviyesinin yükseltilmesinin ilacın bu yan etkisini azaltabileceği ileri sürülmüştür (Tavassoli ve ark., 1998). Oral hijyen uygulamalarının ortodontik apareyler nedeniyle sınırlandırıldığı siklosporin A kullanan bireylerde dişeti büyümesi prevalansında artış olduğu gözlemlenmiştir (Daley ve ark., 1991; Seymour, 2006). Fakat oral hijyen seviyesi ile dişeti büyümesi arasındaki ilişkiyi inceleyen başka bir araştırmada, siklosporin A'ya bağlı dişeti büyümelerinin oluşumunun tek başına plak kontrol programıyla engellenemediği görülmüştür (Seymour ve Smith, 1991). Ayrıca organ nakli yapılacak hastalarda siklosporin A kullanımına bağlı dişeti büyümesi oluşumu oral hijyen uygulamalarıyla engellenememiş, ilaç tedavisi öncesi mevcut dişeti hastalığının dişeti büyümesi riskini önemli ölçüde arttırdığı ileri sürülmüştür (Pernu ve ark., 1993). Yapılan çalışmalar siklosporin A'da olduğu gibi nifedipin kullanımı sonrasında da dişeti büyümesinin MDP varlığında veya yokluğunda mevcut olabileceği ve dişeti kanamasının bu durumu şiddetlendirme potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Barclay ve ark., 1992; Morisaki ve ark., 1993; Tavassoli ve ark., 1998). Bu durumdan yola çıkarak plak ve dişeti enflamasyonu varlığının İBDB'sinin oluşumu için gerekli olmadığı ancak şiddetinin artmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir.

4.4.5.6. Genetik faktörler

İlaça bağlı dişeti büyümesinde (İBDB) ilaç kullanımına bağlı dişeti dokusunda meydana gelen değişimlerin değişkenliği dişeti fibroblastlarının alt popülasyonlarının bulunmasına ve heterojenite göstermelerine bağlanmıştır (Seymour, 2006). Bu alt popülasyonlarda protein sentezi, hücre kültür ortamında yaşam döngüleri, kolajen üretimi, glikozaminoglikan birikimi, proliferasyon oranı, hücre büyüklüğü dağılımı ve yabancı maddelere karşı cevap açısından farklılıklar gözlenmiştir (Hassell ve Gilbert, 1983). İlaça yanıt veren alt hücre popülasyonlarında ilacın, proliferatif aktiviteyi uyarılabildiği veya inhibe edebildiği ileri sürülerek bireyler arasındaki farklılık açıklanmaya çalışılmıştır (Hassell ve Gilbert, 1983).

Yakın dönemdeki araştırmalar, ilacı metabolize eden enzimler ile İBDB arasındaki ilişkiye odaklanmıştır (Pernu ve ark., 1992; Seymour ve ark., 2000; Subramani ve ark., 2013). Fenitoin, siklosporin A ve nifedipin, bir karaciğer enzimi olan sitokrom P450 (CYP 450) tarafından metabolize edilir. Sitokrom P450 (CYP P450) gen polimorfizminin, ilacın metabolizmasına etki ederek plazma ve doku konsantrasyonlarını ve bunların dişetinde oluşturduğu yanıtları etkileyebileceği ileri sürülmüştür (Seymour, 2006). Fenitoine bağlı dişeti büyümesinde CYP2C polimorfizmi ile dişeti büyümesi arasındaki ilişki araştırılmış ancak aralarında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır (Seymour, 2006). Diğer araştırmalar organ nakli hastalarında insan lenfosit antijeni (HLA) ekspresyonu üzerine odaklanmıştır. İnsan lenfosit antijeni DR1 (HLA-DR1) ekspresyonunun İBDB'ne karşı koruma sağladığına dair kanıtların yanında, HLA-DR2 ekspresyonunun bu istenmeyen etkiye yatkınlığı arttırdığı bildirilmiştir (Pernu ve ark., 1994; Cebeci ve ark., 1996; Margiotta ve ark., 1996). Benzer olarak İBDB varlığında HLA-A19 ve HLA-B37 ekspresyonlarında artış olduğu gözlenmekle beraber HLA ekspresyonunun İBDB mekanizmasına etkisi henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Margiotta ve ark., 1996; Thomason ve ark., 1996; Seymour, 2006).

4.4.6. İlaça bağılı dişeti büyümesinin patogenezi

Dişeti büyümesi yan etkisi olan ilaçların dişeti dokuları üzerine multifaktöriyel etkileri sebebiyle İBDB'nin patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Dişeti büyümelerinin klinik ve histolojik özelliklerinin, enflamasyonun şiddetine, ilacın kullanım süresi, ilacın dozu, ilacın tipi, oral hijyen düzeyi ve genetik faktörlere bağılı olarak değişim gösterdiği gözlemlenmiştir. İlacın dişeti büyümesi ekspresyonunu etkileyen bu faktörler, dişeti dokularındaki plağa bağılı enflamatuvar değişimler, genetik faktörler ve ilaca bağılı değişkenler olarak tanımlanmıştır (Seymour ve ark., 1996).

İlaça bağılı dişeti büyümesi (İBDB) görülen dokularda plağa bağılı meydana gelen enflamatuvar değişiklikler, matriks metalloproteinaz (MMP) seviyelerini ve buna bağılı olarak kolajen metabolizmasını etkilemektedir. Kato ve ark. (Kato ve ark., 2005) fenitoin kullanımının dişeti fibroblastlarının kolajen metabolizması üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada MMP-1, MMP-2 ve MMP-3 ekspresyonunun azaldığını göstermişlerdir. Ayrıca Uzel ve ark. (Uzel ve ark., 2001) İBDB dokularında ekstraselüler matrikste fibronektin, tip I, III, IV, V, VI ve VII kolajen ile glikozaminoglikan üretiminde artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Dişeti fibroblastlarının proliferasyon, farklılaşma ve ekstraselüler matriks üretimi gibi fibroblast fonksiyonları, sitokin seviyelerinden ve büyüme faktörlerinden de etkilmektedir. İBDB'de interlökin-6 (IL-6), interlökin-1 β (IL-1 β), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF2), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β 1) ve bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) seviyelerinde artış gözlenmiştir (Hallmon ve Rossmann, 1999; Kose ve ark., 2020). İlaça bağılı dişeti büyümesinde (İBDB) belirli sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin farklı seviyelerde çıkması ve bu patolojinin oluşmasındaki yollar henüz tam aydınlatılamamıştır.

Dişeti dokularındaki genetik altyapı, ilacın metabolizmasını etkilemektedir. Dişeti fibroblastlarının heterojen yapısı ve ilaca karşı duyarlı alt hücre gruplarının varlığı İBDB

görülen ve görülmeyen bireyler arasındaki farklılığı açıklamada ileri sürülen bir kavramdır (Hassell ve Gilbert, 1983).

4.4.7. İlaça bağlı dişeti büyümesinin histolojisi

Farklı İBDB tipleri histolojik olarak belirgin varyasyonlara sahiptir. Fenitoine bağlı dişeti büyümelerinde bağ dokusu içerisine rete peg yaparak uzanan çok katlı yassı epitel hücreleri gözlemlenmiştir. Fibrozis fenitoine bağlı dişeti büyümesinin genel bir bulgusudur. Kalsiyum kanal blokerlere (KKB) bağlı dişeti büyümeleri, histolojik olarak epitel dokusunda kalınlaşma ve aşırı matriks birikimi ile karakterizedir. Bu özellikleri ile KKB ve fenitoin kaynaklı dişeti büyümeleri benzerdir. Siklosporin A kaynaklı dişeti büyümelerinde diğer ilaç gruplarıyla karşılaştırıldığında daha fazla enflamasyon ve vaskülarizasyon gözlemlenmiştir (Hallmon ve Rossmann, 1999; Kantarci ve ark., 2019).

4.4.8. Kalsiyum kanal blokerlerinin farmakolojik özellikleri

Kalsiyum kanalları, kalsiyum iyonlarının bir şekilde geçiş gösterdiği hücrede kasılma, sekresyon, nörotransmisyon ve gen ekspresyonu gibi hücre içi süreçlerin düzenlenmesinde rol alan seçici geçirgen iyon kanallarıdır (Catterall ve ark., 2005). Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları, Na^+ ve K^+ kanallarını da içeren voltaj kapılı iyon kanallarının çok önemli bir üyesidir. Önceleri voltaj kapılı kalsiyum kanalları elektrofizyolojik karakterleri, aktivasyon voltajı ve iyon iletkenlikleri temel alınarak sınıflandırılmıştı. Bu sınıflamaya göre kalsiyum kanalları yüksek voltaj ile aktive edilmiş (HVA) ve düşük voltaj ile aktive edilmiş (LVA) olmak üzere iki gruba ayrılmıştı. Eşik aktivasyon değeri HVA kalsiyum kanalları için $-40 \sim -10$ mV; LVA kalsiyum kanalları için eşik aktivasyon değeri $-60 \sim -70$ mV aralığında belirlenmişti (Hagiwara ve ark., 1975). Daha sonra yapılan sınıflamada voltaj aktivasyon değerine ek olarak kanal iletkenliği, eşik aktivasyonu, inaktivasyon aralığı, ilaç veya toksinlere duyarlılık gibi kriterler de göz önüne alınarak

voltaj kapılı kalsiyum kanalları L tipi (uzun süreli), T tipi (kısa süreli), N (sinirsel), P/Q ve R tipi olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 7) (Yamakage ve Namiki, 2002).

Voltaj kapılı kalsiyum kanalları biyokimyasal, fizyolojik ve farmakolojik açıdan benzer özelliklere sahiptir ve yüksek moleküler ağırlıklı $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , δ , γ alt birimlerinden oluşur. Moleküler ağırlığı 190-250 kDa olan $\alpha 1$ alt birimi, geçiş poru, voltaj sensörü ve kapı aparatını içeren en büyük alt birimdir, ilaçlar ve toksinler tarafından kanalın etkilendiği bölgedir (Şekil 2) (Catterall ve ark., 2005). Kalsiyum kanal blokerlerin (KKB) de bağlandığı bölge bu $\alpha 1$ alt birimidir (Catterall ve ark., 2005).

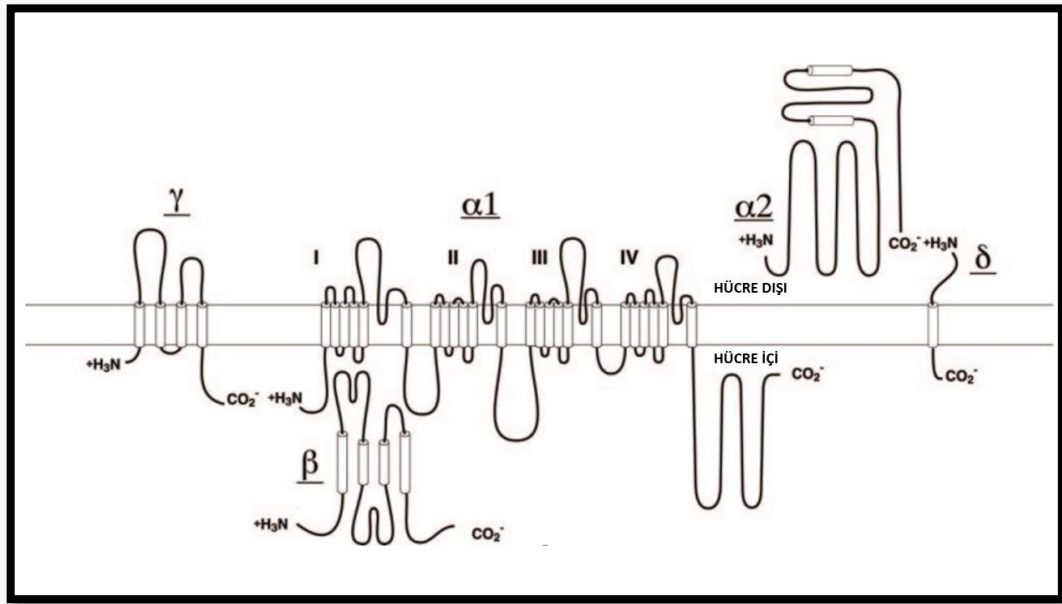
Benzotiyazepin, fenilalkilamin ve DHP'lerin alfa birimlerindeki bağlantı yerleri farklılık göstermektedir. Ayrıca bu alt birimler dört ana alandan oluşan karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu ana alanların her biri 6 transmembran birim içerir. Kalsiyum kanal gözenekleri beşinci ve altıncı transmembran birimi arasında bulunur. Bu gözenekler iyon iletkenliği ve seçiciliğini belirlemektedirler. Kalsiyum kanallarının voltaj sensörü ise her alanın dördüncü transmembran birimine yakın konumlanmıştır (Şekil 2) (Catterall ve ark., 2005; Khot S. ve ark., 2021).

Tablo 7. Kalsiyum kanallarının sınıflandırılması (Yamakage ve Namiki, 2002 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

	<i>T tipi</i>	<i>N tipi</i>	<i>L-tipi</i>	<i>P/Q-tipi</i>	<i>R-tipi</i>
Voltaj bağımlılığı	DVA	YVA	DVA	YVA	OVA
Eşikdeğer aktivasyonu (mV)	-70	-20	-30 ~ -10	-60	-40

Kalsiyum kanal blokerlerin (KKB) en önemli özelliği, kalsiyum kanalı açık hale geldiğinde yük taşıyan kalsiyum iyonlarının akışını seçici olarak inhibe etmektir. Kalsiyum kanal blokerler (KKB) hücre zarındaki voltaj kapılı L tipi ana kalsiyum kanallarının $\alpha 1$ alt ünitesine bağlanırlar. L tipi kanallarının görevleri sarkoplazmik retikulumdan tarafından hücre içine salınan kalsiyum ile kalp kasının kasılması ve gevşemesi, hormon salınımı, transkripsiyonun düzenlenmesi, sinaptik entegrasyondur

(Tablo 7) (Yamakage ve Namiki, 2002; Wang ve ark., 2017; Khot S. ve ark., 2021). Kalsiyum kanal blokerlerin (KKB) L tipi kanallar üzerine etkisi arter ve arteriollerde vazodilatasyona neden olur fakat toplar damarlarda aynı etkiyi göstermezler. Dihidropirin (DHP) türevi olmayan KKB'ler sinoatrial ve atrioventriküler düğümde etki göstererek kalp atış hızının azalmasına (kronotropik etki) ve uyarılarının iletilme hızının azalmasına (dromotropik etki) neden olurlar. Dihidropiridinler (DHP) ise miyokard hücrelerine etki ederek kalbin kasılma gücünü azaltırlar (inotropik etki) (Khot S. ve ark., 2021).



Şekil 2. Kalsiyum kanallarının alt birimleri ve yapıları (Catterall ve ark., 2005 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

4.5. Herediter Gingival Fibromatozis

Herediter gingival fibromatosis (HGF) iyi huylu, nadir görülen ve dişeti dokularında fibrötik büyümeyle karakterize kalıtsal bir durumdur. Herediter gingival fibromatosisin (HGF) görülme sıklığı 1:175.000dir ve her iki cinsiyeti de eşit olarak etkilemektedir. Dişeti büyümeleri genellikle kalıcı dişlenme döneminde görülse de süt dişlenme döneminde ve nadir olarak da doğumun hemen sonrası görülebilmektedir (Singer ve ark.,

1993; Bozzo ve ark., 2000; Coletta ve Graner, 2006). Dişeti büyümeleri klinik olarak serbest ve yapışık dişeti ile interdental papillayı etkilemekle birlikte mucogingival birleşiminin ötesine geçmemektedir (Gawron ve ark., 2016). Herediter gingival fibromatosis (HGF) her iki çenede yaygın olarak hem bukkal hem de lingual bölgeyi etkileyebilmektedir, bazen de lokal olarak sadece maksiller tüber bölgesi veya mandibular molarların lingual bölgelerinde görülebilmektedir (Dhadse ve ark., 2012). Fibrotik ve tıkHz dişeti büyümeleri, diastema, dişlerin malpozisyonu, dişlerin sürmesinde gecikme veya gömülü kalması, cross ve open bite veya yetersiz dudak desteğine neden olabilir (Resim 3). Bu durumlarda etkilenen bireylerde estetik ve fonksiyonel problemler ortaya çıkar (Bozzo ve ark., 2000; Baptista, 2002; Coletta ve Graner, 2006; Pego ve ark., 2015). Dişeti büyümesi alveol kemiğini doğrudan olarak etkilememesine rağmen MDP birikimini arttırarak periodontitis ve halitozis oluşumuna da zemin hazırlar (Coletta ve Graner, 2006).



Resim 3. Herediter Gingival Fibromatosis görülen hastanın palatinal bölgeden ağız içi görüntüsü

4.6. Dişeti Büyümelerinin Tedavisi

Dişeti büyümesinin tedavisi, bu durumun nedeni ve altında yatan patolojik değişiklikleri göz önünde bulundurarak temel olarak cerrahi olmayan ve cerrahi periodontal tedavi olarak ikiye ayrılmaktadır (Kantarci ve ark., 2019).

4.6.1. Cerrahi olmayan periodontal tedavi

Periodontal tedavinin ilk basamağı olan cerrahi olmayan periodontal tedavinin (COPT) amacı, periodontal hastalığa neden olan etiyolojik faktörleri ortadan kaldırmak, periodontal hastalığın ilerlemesini durdurmak ve hastalıklı dokuları sağlıklı durumuna geri döndürmektir. Bu tedavi yöntemi için terminolojide faz 1 tedavi veya başlangıç periodontal tedavi gibi farklı ifadeler de yer almaktadır (Heitz-Mayfield ve Lang, 2013).

Amerikan Periodontoloji Derneği tarafından COPT, kapsamlı bir günlük plak veya biyofilm kontrol rejiminin başlatılması, periodontal sağlık ile sistemik durumlar arasındaki ilişkilerin gerektiği şekilde yönetilmesi ve supragingival ve subgingival bakteri plağı veya biyofilmin tamamen uzaklaştırılması olarak tanımlanmaktadır (Takei, 2019).

Cerrahi olmayan periodontal tedavi (COPT) kapsamında diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi işlemleri, dişeti büyümesinin enflamatuvar komponentini elimine ederek dişeti büyümesinin boyutlarının azalmasında pozitif etki gösterir (Livada ve Shiloah, 2014). Fibrotik komponenti bulunmayan EDB'nin tedavisinde COPT, dişeti büyümesinin boyutlarının ilgili diş yüzeylerinden MDP'nin tamamen uzaklaştırılmasını engellememesi koşuluyla tek başına yeterli olabilmektedir (Carranza ve Hogan, 2015). İlaça bağlı dişeti büyümesi (İBDB) tedavisinde ise COPT'ye ek olarak hastanın doktoru ile konsültasyon yapılmasının ardından büyümeye neden olan ilacın bırakılması veya başka bir ilaç ile yer değiştirilmesi önerilmektedir (Dongari ve ark., 1993; Harel-Raviv ve ark., 1995). Dişetlerinde büyüme yan etkisi gösteren ilacın kesilmesi tıp hekimleri tarafından genellikle tercih edilmemekte, ilacın muadili olan bir ilaç ile değiştirilmesi

tercih edilen bir seçenek olmaktadır. İlaç rejiminin düzenlenmesi konusunda farklı düşünceler olduğu için ortak bir karar bulunmamaktadır. (Kantarci ve ark., 2019) İlaça bağlı dişeti büyümesinin (İBDB) tedavisinde ilaç rejiminin düzenlenmesi sonrası biyofilmin kontrol altına alınması ve oral hijyenin optimal seviyeye getirilmesiyle dişeti büyümesinin hacimsel olarak küçüldüğü ve genel dişeti sağlığının iyileştiği gözlemlenmiştir (Seymour ve Smith, 1991; Srivastava ve ark., 2010; Pundir ve ark., 2014; Fardal ve Lygre, 2015; Zoheir ve Hughes, 2020). Ayrıca COPT'nin İBDB'de zamana bağlı etkinliği birçok araştırmacı tarafından farklı sürelerde değerlendirilmiştir. Siklosporin A'ya bağlı dişeti büyümelerini Kantarcı ve ark. (Kantarci ve ark., 1999) 8 hafta, Somacarrera ve ark. (Somacarrera ve ark., 1997) 6 ay ve Aimetti ve ark. (Aimetti ve ark., 2005) 12 aylık süreçlerde değerlendirmişlerdir. Değerlendirme süreleri farklı olsa da bu araştırmalarda etkin bir yöntem olduğu olan COPT dişeti enflamasyonunun zaman içerisinde azalması yoluyla büyümenin boyutlarında küçülmeye neden olduğu gözlemlenmiştir. Cerrahi olmayan periodontal tedavi (COPT) etkinliği sayesinde hafif düzeyde İBDB olan hastalarda büyüme kabul edilebilir seviyeye indirgenebilir ve böylece cerrahi tedavi gereksinimi azalabilir. Trackman ve Kantarcı (Trackman ve Kantarci, 2015) MDP'in ortadan kaldırılmasına bağlı olarak COPT yaklaşımının klinik lezyonların boyutlarını %40'a kadar azaltabildiğini belirtmiştir.

4.6.2. Cerrahi peridontal tedavi

Cerrahi olmayan periodontal tedavi (COPT) uygulamaları erken dönemdeki periodontal hastalıkların tedavisinde tek başına yeterli olmaktadır. İlaça bağlı dişeti büyümesinde (İBDB) COPT sonrasında büyümüş dişeti dokularının büzülmediği veya diş yüzeyine erişime engel olacak boyutta fibrotik bileşen bulunduğu durumlarda fazla dişeti dokusunun cerrahi olarak çıkarılması tercih edilen bir tedavi yöntemidir. Geçmişte periodontal cerrahi teknikleri sadece hastalıklı dişeti dokularının kesip çıkarılmasını hedefliyordu. Bu düşünceye göre hastalıklı dişeti dokularının dişeti ameliyatı sırasında eksizyonu ve nekrotik alveol kemiğinin çıkarılması işlemleri uygulanıyordu. Periodontal hastalığın kemik nekrozu ile sonuçlanmadığı, dişeti iltihabı ve kemik kaybının bir

savunma reaksiyonu sonucu oluştuğunun keşfedilmesi üzerine bu tedavi yaklaşımı terk edilmiştir. Daha sonra derin periodontal cep eliminasyonu periodontal tedavinin ana hedefi haline gelmiştir. Gingivektomi veya flep prosedürleri, periodontal cebi ortadan kaldırmak ve kök yüzeyi düzleştirme ve ağız hijyeni prosedürleri için kök yüzeyine erişim sağlamak için yaygın olarak uygulanmıştır (Heitz-Mayfield ve Lang, 2013). Periodontal doku biyolojisi, periodontal hastalıkların patogenezi ve periodontal yara iyileşme mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasıyla, periodontal cep eliminasyonunun gerekliliği önemli hale gelmiştir. Günümüzde ise periodontal cerrahinin temel amacının kök yüzeyine erişim sağlamak ve hastanın kendi oral hijyenini sağlayabilmesi için optimal dişeti konturlarını oluşturmak olduğu anlaşılmıştır (Heitz-Mayfield ve Lang, 2013) Bu bakış açısıyla orta ve ileri seviyedeki periodontal hastalık durumlarında biyofilmin uzaklaştırılması amacıyla ve derin periodontal cebin eliminasyonu sırasında kök yüzeyine erişim ancak cerrahi olarak sağlanabilmektedir (Kantarci ve ark., 1999; Takei, 2019).Cerrahi olmayan periodontal tedavi (COPT) sonrası büyümüş dişeti dokusunun fibrotik komponentinin boyutlarında değişiklik olmaz ve bu dokular dişeti büyümesinin yaklaşık % 60'ını oluşturabilir (Trackman ve Kantarci, 2015). Ellis ve ark.(Ellis ve ark., 2001) İBDB görülen hastalarda dişeti büyümesi indeksinin %30'u aştığı durumlarda cerrahi müdahaleye başvurulması gerektiğini belirtilmiştir.

Cerrahi periodontal tedavinin (CPT) ana hedefi, fazla dokuların rezeksiyonu, periodontal ceplerin eliminasyonu, dişeti görünümünün düzenlenmesi ve periodonsiyumun fonksiyonunun yeniden kazanılmasıdır. Dişeti büyümelerinin tedavisinde bu amaçla uygulanan cerrahi teknikler gingivektomi ve flep operasyonudur (Heitz-Mayfield ve Lang, 2013). Uygun tekniğin seçimi, dişeti büyümesinin boyutuna ve dokunun karakterine bağlıdır. Büyümüş dişeti dokusu COPT'den sonra bile yumuşak ve gevşek kalırsa bu dokuların rezeksiyonunda gingivektomi operasyonu tercih edilebilir. Bununla birlikte, gingivektomi işleminin yapışık dişetini tamamen ortadan kaldırabileceği durumlarda mukogingival problemlere neden olmamak amacıyla flep operasyonu tercih edilir. Dişeti büyümesine eşlik eden periodontitis varlığı durumunda flep operasyonu kemik içi cepleri

ortadan kaldırılmasında kullanılmaktadır. Bu sebeple gingivektominin aksine daha sıkı ve tıkHz kıvamlı dişeti dokusuna ihtiyaç vardır (Carranza ve Hogan, 2015).

4.6.1.2.1. Konvansiyonel gingivektomi

Gingivektomi, cebin yumuşak doku duvarının eksize edilerek dıştaşına tam olarak erişebilirliği ve kök yüzeyinin düzleştirilmesini kolaylaştırır. Gingivoplasti, periodontal ceplerin olmadığı durumlarda, fizyolojik ve anatomik doku konturunun ve formunun elde edilmesi için, dişetin yeniden şekillendirilmesidir. Her gingivektomi işlemini gingivoplasti takip eder. Gingivektomi kemik üstü ceplerin, dişeti büyümelerinin ve kemik üstü periodontal abselerin tedavisinde kullanılır (Carranza ve Hogan, 2015). Dişeti büyümesinde gingivektomi ve gingivoplasti operasyonları bistüri, gingivektomi bıçakları, elektrocerrahi veya dental lazer ile gerçekleştirilir.

Konvansiyonel gingivektomi ilk olarak Thompson ve Gillespie tarafından 1941 yılında gerçekleştirilmiştir (E. Thompson ve Gillespie, 1941). Bu teknikte, uzunlamasına yapılan eğimli ensizyon vasıtasıyla hacmi artmış dişeti dokuları ve yalancı cepler ortadan kaldırılarak dişin kuruunu açığa çıkarılır. Konvansiyonel gingivektomi, basit ve keskin bir ensizyonla yapıldığı için çevre dokulara minimum zarar verir ancak peri-operatif hemoraji en önemli dezavantajıdır.

4.6.1.2.2. Flep operasyonu

Periodontal flep operasyonu, cerrahi olarak kök yüzeyine erişimi sağlamak için dişeti ve alveol mukozasının veya her ikisinin altındaki dokulardan ayrılmasıdır. Periodontal flep operasyonu ataşman kaybı ve kemik içi defektlerin eşlik ettiği dişeti büyümelerinin tedavisinde tercih edilir (Takei, 2019).

4.7.Fibrozis

Dokularda meydana gelen onarım sürecinin bir parçası olan fibrozis, zararlı bir ajanın dokudaki etkinliğininin yavaşlatılması ve hasar görmüş olan dokunun iyileşmesi için gereklidir. Bir hastalık durumu olmamakla beraber aksine özellikle kronik enflamatuvar hastalıkları takiben dokuda oluşan yıkım esnasında gelişen düzensiz doku onarım yanıtının bir sonucudur. Dokularda onarımın önemli bir aşaması olarak kolajen, fibronektin ve proteoglikan gibi ekstraselüler matriks bileşenlerinin aşırı birikimi ile karakterizedir (Henderson ve ark., 2020). Yara iyileşmesinin ilk aşamasında dokulardaki fibroblastlar aktif hale gelir. Bu fibroblastlar proenflamatuvar mediyatörler salgılayarak ekstraselüler matriks bileşenlerinin sentezini arttırmırlar. Ekstraselüler matriksin ortamda geçici bir süre birikimi, doku hasarının küçük ve tekrarlayıcı olmadığı durumlarda yara iyileşmesinde gereklidir ve hızlı bir şekilde ortadan kaldırılarak doku yapısının yeniden oluşturulmasını kolaylaştırır. Fibrozis başlangıçta dokunun iyileşme sürecinin bir parçası olmakla beraber bu süreç uzadıkça patolojik hale gelebilir. Bu durum doku boyutlarının artması, normal doku konturunun bozulmasına ve kalıcı hasarın oluşmasına neden olur (Wynn, 2004). Enflamasyon, yaşlanma, ilaçlar, sistemik hastalıklar ve genetik gibi faktörler yara iyileşme sürecinin fibrozis veya doku onarımı olarak iki farklı şekilde sonuçlanabileceğini belirler (Henderson ve ark., 2020). Fibrozis kalp, karaciğer, böbrek ve akciğer gibi hayati organların fonksiyonlarını etkileyebilir hatta organ kaybına sebep olabilir. Temel tıp alanında yapılan güncel çalışmalar, organ fibrozisinin altında yatan mekanizmayı araştırmak amacıyla patogenetik yollardan olan Wnt ve TGF- β sinyalizasyonunda yer alan farklı biyobelirteçler üzerine odaklanmıştır (Piersma ve ark., 2015; Meng ve ark., 2016; Burgy ve Konigshoff, 2018). Akciğer fibrozisi görülen bireylerde alfa smooth muscle actin (α -SMA), MMP-7, osteopontin, periostin ve hücreler arası adezyon molekülü-1 ekspresyonunun arttığı, galectin-3'ün inhibisyonu ile akciğer fibrozisinin gerilediği , akciğerde fibrotik yanıt sonucu TGF- β seviyesinin yükseldiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. (Hou ve ark., 2019; Hirani ve ark., 2021; Clynick ve ark., 2022) Karaciğer fibrozisi üzerine yapılan bir derlemede farklı hücre tiplerinden salgılanan α -SMA, TGF- β , monosit kemoatraktan protein, IL-8, IL-10 ve RANTES

moleküllerinin fibrotik mekanizmada rol aldığını belirtilmiştir (Kisseleva ve Brenner, 2021). Böbrek fibrozisi üzerine yapılan bir çalışmada mikroglubulin, monosit kemoatraktan protein ve prokolajen seviyelerinin idrarda yüksek olduğunu gözlemlemiştir (Park ve ark., 2017). Bu veriler göz önüne alındığında tıp alanında sistemik hastalıklarda fibrotik süreçler yoğunlukla incelenmiş, diş hekimliğinde de periodontoloji alanında da fibrotik bir hastalık olan dişeti büyümelerinde de detaylı olarak araştırılmaktadır.

4.7.1. Dişeti büyümelerinde fibrozis

Dişeti büyümesinde görülen doku reaksiyonlarından biri olan fibrozis, diğer dokularda olduğu gibi periodontal dokularda da enflamasyona karşı savunma mekanizmasının bir bileşenidir. Bakteriyel biyofilm dişeti oluşu ve periodontal ceplerde kolonize olarak dişeti dokularında enflamasyonu başlatır. Biyofilm tabakası periodontal dokuları zarar veren ve konak hücrelerde enflamatuvar yanıtı uyaran bir dizi yapısal bileşene sahiptir. Dişetinin biyofilm tabakasına karşı gösterdiği bu yanıt ilerleyen süreçte doku yıkımına neden olur. Dişeti büyümesinde dokularda meydana gelen morfolojik değişiklikler plak birikimini artırır. Büyümüş dişeti ile normal dişeti arasında çizgisel bir oluk oluşur; bu durum plak kontrolünü zorlaştırarak sekonder enflamatuvar sürece de neden olabilir. Moleküler düzeyde, dişeti fibroblastlarından doku yıkımını takiben fibrojenik ve rejeneratif sinyallerin düzenlenmesinde katkıda bulunan proenflamatuvar mediatörler salgılanır. Dişeti büyümelerinde fibrotik mekanizmayı inceleyen birçok çalışmada dişeti büyümesinin patogenezinde rolü olduğu düşünülen nitrik oksit sentaz, IL-6, TGF- β 1, SMAD-2, SMAD-3, SMAD-7, CTGF, FGF, fosfataz ve tensin homoloğu, alfa düz kas aktin (α -SMA), Ki-67, CK AE1/AE3 gibi proteinlerin varlığı insan ve hayvan doku örneklerinde tespit edilmiştir (Saito ve ark., 1996; Gurkan ve ark., 2009; Nitulescu ve ark., 2012; Sobral ve ark., 2012; Kim ve ark., 2013; Ganesh, 2016; Anand ve ark., 2018; Kanno ve ark., 2018; Craitoiu ve ark., 2019; Eftekharian ve ark., 2019). Ayrıca dişetinin fibrozisinde PDGF, TGF- β , angiotensin-II, endothelin-1, interleukin-4 (IL-4), IL-6 ve IL-

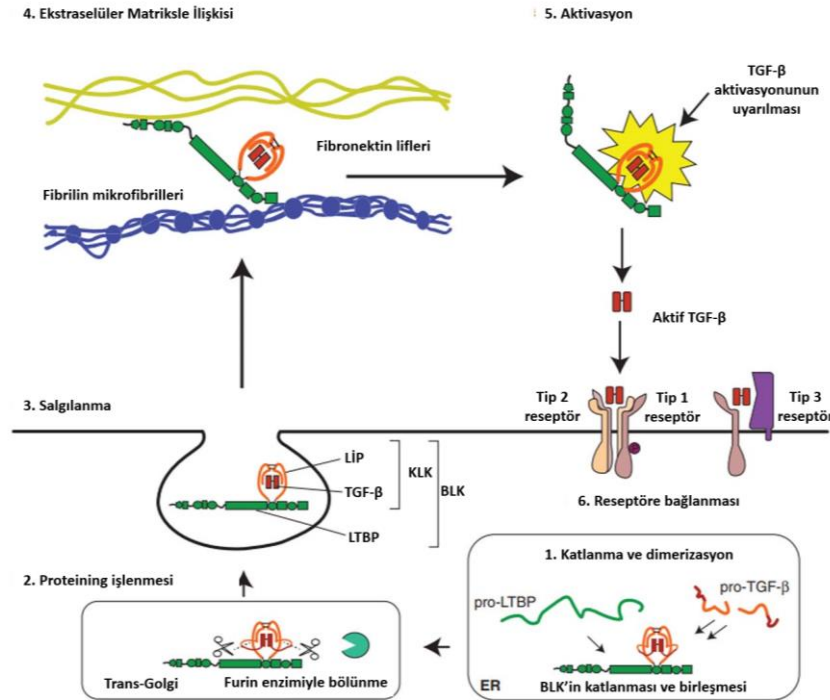
13 gibi enflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunda artış olduğu bildirilmiştir (Subramani ve ark., 2015).

4.7.2. Transforme edici büyüme faktörü- β

Transforme edici büyüme faktörü $\beta 1$ (TGF- β), hücre farklılaşması, hücre proliferasyonu, hücre göçü, gen ekspresyonu, hücre ölümü ve doku homeostazı gibi çeşitli görevleri olan bir polipeptittir. Transforme edici büyüme faktörü $\beta 1$ (TGF- β) dokulardan TGF- β 'nın öncül hali hem , hem de bu büyüme faktörünün propeptidi olan Latensi ilişkili peptit (LİP) içeren homodimerik proproteinler olarak ikili bir yapıda sentezlenir. Endoplazmik retikulumda, bu propeptit latent TGF- β bağlayıcı protein (LTBP) olan başka bir proteine bağlanır. Kompleks daha sonra Golgi'ye taşınır, burada LİP furin aracılı reaksiyonlar yoluyla olgun TGF- β faktöründen ayrılırsa aralarındaki kovalent olmayan bağ devam eder. (Transforme edici büyüme faktörü $\beta 1$) TGF- $\beta 1$, hücreler tarafından ya olgun TGF- $\beta 1$, LİP ve LTBP'ten oluşan üçlü büyük latent kompleks (BLK) ya da küçük latent kompleks (KLK) olarak bilinen TGF- β /LİP kompleks olarak salgılanır (Robertson ve Rifkin, 2016). Transforme edici büyüme faktörü $\beta 1$ 'in (LİP) görevlerinde biri de olgun TGF- β 'a bağlanarak büyüme faktörünün reseptöre bağlanmasını geciktirmek veya engellemektir. Latent TGF- β bağlayıcı protein (LTBP) ise ekstraselüler matrikste salgılanan büyüme faktörünü lokalize ederken BLK'in etkili bir şekilde salgılanması ile görevlidir. Doku yaralanması, latent TGF- β 'lerin lokal ekstraselüler matriksteki depolanmasını arttırır. Böylece latent kompleksten olgun TGF- β 'lerin salınmasına aracılık eden çok sayıda moleküler sinyal uyarılarla TGF- β 'ların aktif hale gelmesi sağlanır (Şekil 3). Transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β) hücreler üzerinde 3 reseptör sınıfı (I,II ve III) aracılığıyla etki gösterirler, reseptör I ve II'nin hücre zarı ile ilişkilidir ve ligand bağlanması ve sinyal iletimi için gereklidir (Wright ve ark., 2001; Robertson ve Rifkin, 2016). Bu büyüme faktörü TGF- $\beta 1$, TGF- $\beta 2$ ve TGF- $\beta 3$ gibi 3 farklı izoforma sahiptir. Toll like reseptör sinyali, proenflamatuvar sitokinler, fibrotik alanda yer alan TGF- β kaynağı hücreler ve ekstraselüler matriksin proteaz bağımlı mekanizması TGF- β

ekspresyonu uyarılmasını sağlar. Transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β), fibroblast, makrofaj, platelet, T hücreleri ve mast hücrelerinden salgılanır. Bu sitokin yara iyileşme sürecinde dokunun hem tamiri hem de fibrozis mekanizmasında rol alır (Wright ve ark., 2001; Frangogiannis, 2020).

Dişeti büyümelerinin fibrotik yapıda olduğu bilgisi doğrultusunda, bu dokularda TGF- β ekspresyonu görüldüğü de bilinmektedir. Siklosporin-A'ya bağlı büyüme görülen bireylerden alınmış dişetinden kültüre edilen fibroblastlarda yüksek oranda TGF- β 1 seviyelerinin olduğu bildirilmiştir (James ve ark., 1998). Fenitoin ve nifedipin ile indüklenen dişeti büyümesi görülen bireylerden alınan doku örneklerinde TGF- β 1 ve TGF- β 2 seviyeleri yüksek bulunmuştur (Saito ve ark., 1996). Ayrıca HGF görülen bireylerden kültüre edilen fibroblastların TGF- β 1 ve TGF- β 2 seviyelerinin yüksek olduğu rapor edilmiştir (Tipton ve Dabbous, 1998). Bu raporlar, TGF- β 1'lerin hem İBDB hem de kalıtsal dişeti fibromatozunun patogeneğinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.



Şekil 3. Transforme edici büyüme faktörü β 'nın (TGF- β) sentezlenmesi, salgılanması ve aktivasyonu (Robertson ve Rifkin, 2016 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

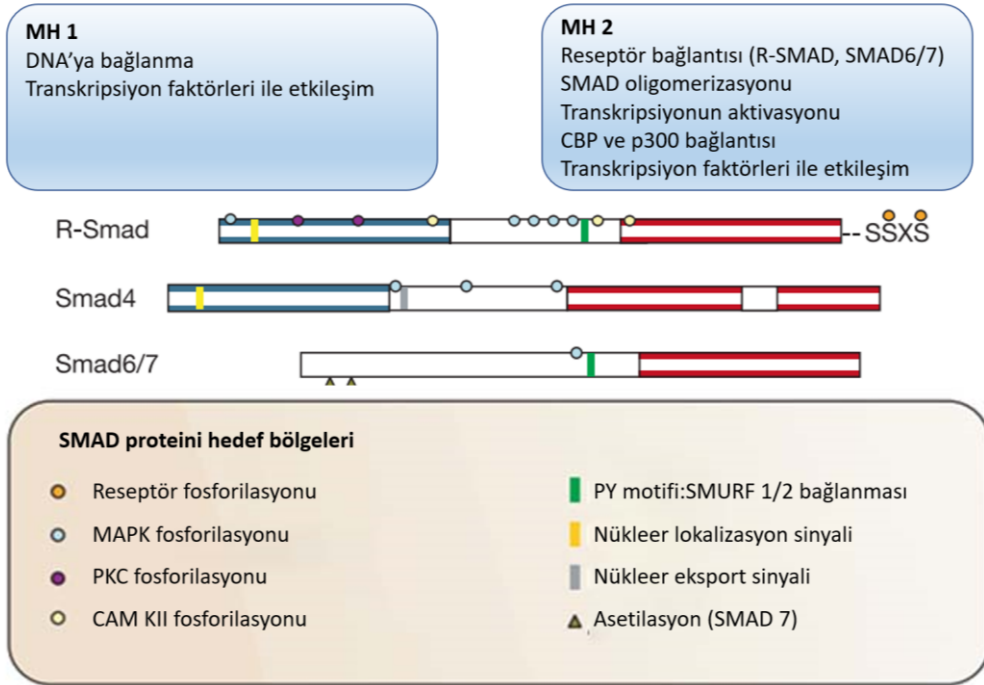
4.7.3. SMAD proteinleri

Transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β) süper ailesi hücre zarında yer alan tirozin/kinaz reseptörlerine etki ederek hücre içi mediatörlerden biri olan SMAD proteinlerini uyarırlar. Bu proteinler aktive olarak sitoplazmadan çekirdeğe translokasyona uğrar ve çekirdekte gen ekspresyonunu kontrol eder (Wrana ve Attisano, 2000). SMAD, *Caenorhabditis elegans* solucanında SMA (Smilar to mother against geni) geni ve *Drosophila* sineğinde MAD (Mothers Against Decapentaplegic geni) geninin iki gen homologunu ifade etmektedir. İnsan SMAD-1 proteinin SMA ve MAD proteinleri ile benzer yapıya sahip olmasıyla SMAD proteinleri tanım olarak ortaya çıkmıştır (Liu ve ark., 1996). *Drosophila* türü sinekte (Sekelsky ve ark., 1995), *Xenopus* türü kurbağada (Howell ve ark., 1999), *Caenorhabditis elegans* türü solucanda (Krishna ve ark., 1999) ve memelilerde 3 farklı tür SMAD proteini tanımlanmıştır. Reseptöre bağımlı SMAD proteini R-SMAD olarak, genel mediatör olarak görev alan SMAD proteini Co-SMAD olarak ve reseptör kompleksi ile bağlantıyı engelleyen inhibitör özellikli SMAD proteini I-SMAD olarak tanımlanan türlerdir. Liganda bağlanmamış R-SMAD'lar hücre sitoplazmasında, Co-SMAD'lar hem hücre sitoplazması hem de hücre çekirdeğinde görülür.

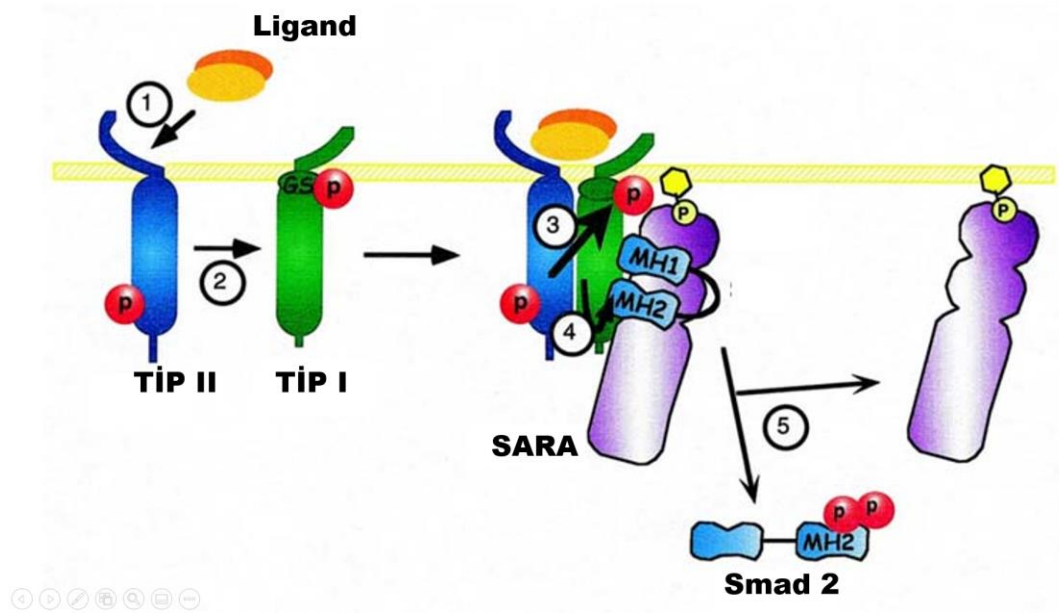
İnsan SMAD proteinleri 500 aminoasid uzunluğunda ve bir bağlayıcı bölge ile birleştirilmiş iki küresel alandan oluşur. Yapısal olarak SMAD proteinleri amino bölümü, carboksi-terminal bölümü ve bu ikisini birbirine bağlayan temel bağlayıcı bölüm adı verilen, 3 farklı yapıdan oluşur (Wrana ve Attisano, 2000). Amino terminali olarak “*Mad-homolog 1*” (MH1) ve carboksi-terminal bölümü “*Mad homolog 2*”(MH2) olarak adlandırılır. Reseptöre bağımlı SMAD'lardan (R-SMAD) SMAD-2 ve SMAD-3 proteinleri; TGF- β ve activin reseptörü olan T β RI ve ActRIB ile MH2 bölümündeki carboksi-terminalin fosforilasyonu yolu ile aktif hale gelir. İnsan SMAD-1, SMAD-5 ve SMAD-8 ise kemik morfogenetik proteini (KMP) ve anti-Muellerin reseptörleri için substrat olarak kullanılır (Wrana ve Attisano, 2000; Derynck ve Zhang, 2003). İnsan Co-SMAD'ı olarak tanımlanan SMAD-4 proteinleri bütün hücrede dağınık bir şekilde bulunur ve bütün R-SMAD'larla beraber çalışarak sitoplazma ve çekirdek arasında

taşıma işlemini gerçekleştirir (Pierreux ve ark., 2000). İnsan SMAD-6 ve SMAD-7 proteinleri I-SMAD olarak tanımlanırlar, SMAD-reseptör ve SMAD-SMAD bağlantılarını inhibe ederek etki gösterirler (Massague ve ark., 2005). *Mad homolog 1* (MH1) bölümü bütün R-SMAD'larda ve SMAD-4' proteininde bulunurken SMAD-6 ve SMAD-7 proteininde bulunmamaktadır. *Mad homolog 1* (MH2) bölümü ise bütün SMAD proteinlerinde bulunmaktadır (Massague ve ark., 2005). *Mad homolog 1* (MH1) bölümü SMAD proteinlerinin DNA parçalarına bağlanan kısmıdır. *Mad homolog 2* (MH2) bölümü ise MH1'in aksine DNA'ya bağlanmaz ama transkripsiyonu aktive eder. MH2 bölümüne tip I reseptör, SARA (Smad Arabuluculu Reseptör Aktivatörü) ve CBP (CREB bağlama proteini) gibi çeşitli proteinler bağlanır ve böylece transkripsiyon aktivasyonu gerçekleşir. MH1 ve MH2 arasındaki temel bağlayıcı bölüm önemli peptit bağları içerir (Şekil 4) (Derynck ve Zhang, 2003).

TGF- β , KMP and activin gibi TGF- β ailesi proteinleri özellikle gelişimin erken aşamasında hücre yapısının korunması, doku farklılaşma sürecinde hücrelerin çoğalmasında, farklılaşmasında ve göçünün düzenlenmesinde görevlidir. Dokudaki TGF- β sinyali hücre zarında yer alan tip I ve II tirozin/kinaz reseptörünü uyararak hücre içi bir mediatör olan SMAD proteinlerinin aktive edildiği bir dizi doku reaksiyonunu başlatır. TGF- β ligandı ilk olarak tip II reseptörüne bağlanarak tip I reseptörünün zara yakın GS bölümüne fosfor iyonunu bağlayarak, reseptörün uyarılmasını sağlar. Daha sonra ara bir protein olan SARA vasıtasıyla SMAD-2'nin MH2 bölümü ile Tip I reseptörü etkileşime girer ve SMAD-2'nin aktivasyonu gerçekleşmiş olur (Şekil 5) (Wrana ve Attisano, 2000).



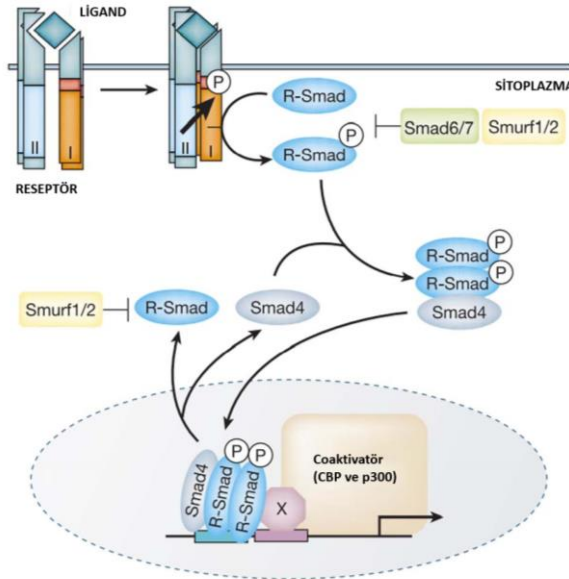
Şekil 4. Smad proteinin yapısal organizasyonu (Derynck ve Zhang, 2003 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)



Şekil 5. SMAD proteinin TGF- β ligandı ile aktivasyonu (Wrana ve Attisano, 2000 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

Reseptörlerden ayrılan ve aktif hale gelmiş R-SMAD'lar daha sonra 2 adet R-SMAD ve Co-SMAD olarak adlandırılan 1 adet SMAD-4 proteini ile birleşerek 3'lü bir kompleks yapı oluşturur. Bu heterotrimerik yapı hücre sitoplazmasından çekirdeğe geçerek SMAD proteini aracılığıyla transkripsiyon süreci başlar. R-SMAD'ların hücre içerisindeki seviyeleri E3 ubiquitin ligaz enzimi, SMURF-1 (SMAD ubitiquitinasyon düzenleyici faktör) ve SMURF-2 tarafından kontrol edilir (Derynck ve Zhang, 2003). KMP sinyali bulunmadığı durumlarda SMAD-1 ve SMAD-2 proteinleri ubiquitin ligaz ve SMURF-1 tarafından parçalanırlar (Zhu ve ark., 1999).

Transkripsiyon sürecinin negatif feedback mekanizması olarak ise KMP ve TGF- β 'nın etkisiyle hücre çekirdeğinde yer alan SMAD-6 ve SMAD-7 proteinleri uyarılır ve liganda bağlı sinyalizasyon yolu inhibe edilmiş olur. Bu inhibisyon görevi olan SMAD proteinleri MH2 bölümlerini hücre zarındaki tip 1 reseptörüne bağlanır ve R-SMAD'larla bağlanma açısından yarışarak TGF- β sinyali ile R-SMAD fosforilasyonunu engeller. Bu şekilde I-SMAD'lar R-SMAD'ların aktivasyonunu düzenler. Ayrıca SMAD-7 proteini SMURF-1 ile birleşerek hücre zarındaki reseptörlerin yıkılmasını sağlayarak R-SMAD'ların aktivitesini azaltır (Şekil 6) (Derynck ve Zhang, 2003) .



Şekil 6. SMAD proteininin hücre içerisindeki aktivitesi (Derynck ve Zhang, 2003 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

SMAD proteinleri hücrede TGF- β sinyalizasyon yolu ile etki göstererek hücre çoğalması ,hücre farklılaşması, hücre göçü, yara iyileşmesi ve fibrozis oluşumu gibi durumların hücre içerisinde kontrolünü sağlayan mediatörlerdir (Wrana ve Attisano, 2000; Derynck ve Zhang, 2003; K. K. Kim ve ark., 2018). Dokularda meydana gelen fibrotik değişiklikler sonucu R-SMAD’lardan SMAD-2 ve SMAD-3 proteinlerinin miktarı artış gösterirken I-SMAD’lardan SMAD-6 ve SMAD-7 proteinlerinin miktarında azalma olduğu bildirilmiştir (L. Chen ve ark., 2018). Farklı fibrotik karaktere sahip olan dişeti büyümelerinde de bu proteinlerin varlığı bildirilmiştir. Chen ve ark. (J. T. Chen ve ark., 2018) fenitoin ve nifedipine bağlı dişeti büyümesi, HGF ve EDB görülen bireylerden alınan dişeti dokularının hücre kültüründe TGF- β 1’in SMAD-2 proteinlerinin yolağına ve bu proteinlerin hücre çekirdeğine doğru translokasyonuna etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Benzer bir şekilde Kim ve ark. (Kim ve ark., 2013) sağlıklı insan dişeti fibroblast kültüründe nifedipin kullanımı sonrası TGF- β 1 yoluyla uyarılan periostin ve fosforile olmuş SMAD-2 ve SMAD-3 proteinlerinin nükleer translokasyonunda artış olduğunu göstermişlerdir. Aynı araştırmacı farklı bir çalışmada nifedipin ve fenitoin bağlı dişeti büyümesi olan hastalardan izole edilen dişeti dokularında, sağlıklı dişeti dokularına kıyasla artan fosforile olmuş fosforile olmuş SMAD2/3 nükleer translokasyonu, periostin ve fibronektin immünoreaktivitesinde ve kolajen yoğunluğunda artış olduğu göstermiştir. Aynı araştırmada nifedipin ve fenitoin ile muamele edilmiş sağlıklı dişeti dokusu kültüründede aynı fibrotik belirteçler benzer sonuçlar ortaya koymuştur (Kim ve ark., 2015). Ayrıca Sobral ve ark. (Sobral ve ark., 2012) Siklosporin-A kullanımı sonrası sağlıklı insan dişeti doku kültüründe TGF- β 1 sinyalizasyonunun engelleyen SMAD-7 proteininin ekspresyonunun hücre proliferasyonunu, tip I kolajen sentezini ve matriksmetalloproteinaz-2 aktivitesini bloke etmede etkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Transforme edici büyüme faktörü β 1 (TGF- β) fibrotik dişeti büyümeleriyle ilişkili olduğu bulunmuş olup hücresel düzeyde etkisini hangi mekanizmayla gösterdiği henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Farklı organlardaki fibroziste TGF- β ’nın hücresel düzeydeki etkisini SMAD proteinleri aracılığıyla gösterdiği bazı çalışmalarda ortaya konulmuştur. Ancak bu çalışmalarda COPT sonucu dişeti dokularında görülen klinik değişimler periodontal klinik parametreler ışığında değerlendirilmemiştir. Literatürde farklı fibrotik

komponent içeriğine sahip dişeti büyümelerinin TGF- β 1, SMAD-2 ve SMAD-7 protein düzeylerinin dişeti doku örneklerinde immünohistokimyasal olarak analiz edilip karşılaştırıldığı ve COPT sonucunun klinik olarak değerlendirildiği bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

Bu araştırmada, dişeti fibrozisi mekanizmasında rolü olduğu düşünülen SMAD proteinlerinin fibrotik bileşen oranlarının değişiklik gösterdiği dişeti dokularında farklı olacağı hipotezi öne sürülmektedir.

Araştırmamızın amacı kronik EDB ve İBDB’de COPT sonrası değişimin klinik olarak değerlendirilmesi ve dişeti dokularının fibrozis belirteçleri olan TGF- β 1, SMAD-2 ve SMAD-7 proteinleri açısından immünohistokimyasal olarak sağlıklı veya HGF tanısı konulan bireylerle karşılaştırılmasıdır.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Hasta Popülasyonu

Araştırma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna 28.11.2019 tarihinde sunuldu, 06.12.2019 tarihinde 09.2019.1078 no ile onaylandı (EK 1). Bu çalışmaya COPT'si tamamlanmış olan Ocak 2019 ve Ocak 2020 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran, sistemik ve dental anamnezi alınarak klinik muayeneleri sonucunda sistemik olarak sağlıklı, enflamatuvar dişeti büyümesi olan bireyler, antihipertansif bir ilaç grubu olan DHP'lere bağlı dişeti büyümesi tanısı konan bireyler, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı hereditör gingival fibromatosis tanısı konulmuş bireyler ve sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı toplam 46 birey dahil edildi. Seçim kriterlerine uygunluk gösteren hastalara herhangi bir işlem yapılmadan önce çalışmanın amacı ve içeriği hakkında sözlü ve yazılı bilgi verildi. Çalışmanın herhangi bir aşamasında gerekçe göstermeden çalışmadan ayrılacakları ve bu durumun periodontal tedavilerini etkilemeyeceği söylendi. Özel olarak hazırlanmış gönüllü bilgilendirme formu hastaya verilerek açıklamalar yapıldı (EK 2). Takiben gönüllü onay formu hastaya imzalatıldı (EK 3).

5.2. Hasta Seçimi

Tüm Gruplar İçin Dahil Edilme Kriterleri

- Üst ve alt çenede anterior dişler dahil en az 12 adet dişin bulunması
- Çalışmaya katılmaya gönüllü olması
- Sigara kullanmaması
- Hamilelik veya laktasyon döneminde olmaması
- Son 3 ay içerisinde antibiyotik veya antienflamatuvar ilaç kullanmamış olması
- Son 3 ay içerisinde periodontal tedavi görmemiş olması

EDB Grubu İçin İlave Dahil Edilme Kriterleri:

- Sistemik hastalığı bulunmaması
- Periodontal dokuları etkileyecek herhangi bir ilacı kullanmaması
- Enflamatuvar dişeti büyümesi bulunması

İBDB Grubu İlave Dahil Edilme Kriterleri

- DHP grubu haricinde dişeti büyümesine neden olan başka bir ilaç kullanmaması
- Bu ilacı en az 3 aydır kullanıyor olması

HGF Grubu İçin İlave Dahil edilme Kriterleri

- Sistemik hastalığı bulunmaması
- Dişeti büyümesine neden olan herhangi bir ilaç kullanmaması
- HGF tanısı olması

Kontrol Grubu İçin Dahil Edilme Kriterleri

- Periodontal ve sistemik açıdan sağlıklı olması
- Kron boyu uzatma operasyonu endikasyonu olması

Araştırmadan ıkartılma Kriterleri

- Hastaların kendi rızasıyla araştırmadan çekilmesi
- Alınan dişeti örneklerinin uygun laboratuvar koşullarında saklanamaması, hasar görmesi.

5.3. Çalışma Grupları

Hasta seçim kriterleri göz önüne alınarak bu çalışmada aşağıda belirtilen 4 grup oluşturuldu:

- 1) EDB Grubu (n=15):** Sistemik olarak sağlıklı enflamatuvar dişeti büyümesi olan hastalar
- 2) İBDB Grubu (n=10):** Dihidropridin (DHP) grubu ilaçlara bağlı dişeti büyümesi olan hastalar
- 3) HGF Grubu (n=6):** Sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı hereditör gingival fibromatosis görülen bireyler
- 4) Kontrol Grubu (n=15):** Sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireyler

5.4. Çalışma Planı

İki aşamalı olarak planlanan bu çalışmanın birinci bölümünü “çalışma öncesi kısım” oluşturmaktadır. Bu bölüm, çalışmaya dahil edilen 46 adet bireye COPT uygulamasıyla başlayan ve periodontal iyileşmeyle sonlanan 6 haftalık süreyi kapsamaktadır. Tüm hastalara günde iki kez yapılacak yumuşak diş fırçası ile modifiye Bass yöntemiyle diş fırçalama ve diş ipi/arayüz fırçası kullanımını içeren ağız hijyen eğitimi verildi. Ardından tüm hasta gruplarına bütün ağız diş yüzeyi temizliği, kök yüzeyi düzleştirilmesi ve polisaj işlemlerinden oluşan COPT, ultrasonik kazıyıcı (Planmeca Cavitron) ve konvansiyonel el aletleri (Periodontal Sond, 5-6, 7-8, 11-12, 13-14 Gracey, Hu-Friedy, ABD) ile lokal anestezi altında 4 seansta uygulandı. Mekanik periodontal tedavi sonrası 6 hafta iyileşme periyodu beklendi. Bu aşama çalışmanın birinci bölümünün sonlandığı ve takiben tez çalışmasının esas bölümünü oluşturan ikinci bölümünün başladığı kısımdır.

Çalışmanın 0. gününde tüm hastaların ağız içi fotoğrafları çekildi. EDB ve İBDB hastaların aljinat ölçü maddesiyle kullanılarak alçı çalışma modelleri hazırlandı. Bu bölümde EDB ve İBDB olan hastalardan fotoğrafik skorelama için fotoğraf kayıtları alındı ve dişeti büyümesi indeksi ölçebilmek amacıyla ağız içi aljinat ölçü maddesi kullanılarak alçı çalışma modelleri hazırlandı. Plak indeksi (Pİ), gingival indeks (Gİ), sondalamada kanama (SK), sondalama derinliği (SD), Ellis ve ark. (Ellis ve ark., 2001) fotografik dişeti büyümesi indeksi (FDBİ) ve Seymour ve ark. (Seymour ve ark., 1985) modelde ölçülen dişeti büyümesi indeksi (MDBİ) içeren periodontal klinik parametreler bir araştırmacı (O.E) tarafından ölçüldü. Ölçümler özel hazırlanmış veri kayıt formlarına 8 no’lu dişler

hariç ağızdaki tüm dişler için kaydedildi (EK 4). Bu işlemler sırasında muayene sondu ve 0.5 mm çapında periodontal sonda (University of North Carolina, PCPUNC15, Hu-Friedy Ins Co, ABD) kullanıldı. Tüm ağız periodontal klinik parametreler ölçüldü. EDB, İBDB ve HGF görülen hastaların COPT ile elimine edilemeyen ve periodontal cerrahi tedavi esnasında çıkarılıp atılan fazla dişeti dokuları muhafaza edildi. Sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerden kron boyu uzatma esnasında çıkarılan dişeti örnekleri saklanarak muhafaza edildi. Hastalardan alınan dişeti doku örnekleri %10'luk nötral tamponlu formalin içerisinde oda ısısında 48 saat süresince muhafaza edildi. Doku örnekleri bir gece etüvde bekletilerek parafin bloklar içerisinde gömüldü. Dişeti dokulara daha sonra histolojik değerlendirme amacıyla Hematoksilen-Eosin (HE) ve masson trikrom ile boyama yapılarak skorlandı. TGF- β , SMAD-2, SMAD-7 antikorları kullanılarak yapılan immünohistokimyasal boyamanın skorlaması gerçekleştirildi.

5.5. Klinik İndeks ve Ölçümler

Araştırmaya dahil edilen bireylerin periodontal tedavileri ile klinik ölçümleri tek bir hekim (O.E.) tarafından yapıldı. Araştırmada kullanılan klinik ölçüm ve indekslerin, birbirlerini olumsuz yönde etkilemelerini önlemek için ölçümler belirli bir düzen içerisinde gerçekleştirildi. Klinik ölçümler 0.4 mm çapında 15 mm boyunda University of North Carolina periodontal sondu kullanılarak yapıldı. Ölçümler özel olarak hazırlanmış veri kayıt formlarına çalışma planı dahilinde planlanan günlerde, üst ve alt çenede 8 no'lu dişler hariç ağızdaki tüm dişler için kaydedildi.

5.5.1. Plak indeks

Supragingival MDP birikimi periodontal sond ve çıplak göz ile Silness ve Loe (Silness ve Loe, 1964) tarafından geliştirilen Pİ ile ölçüldü. Tüm dişlerin meziyo-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, meziyo-lingual, mid-lingual, disto-lingual olmak üzere 6 yüzündeki MDP miktarına 0 ile 3 arasında indeks değeri verildi. Bu indeks sistemine göre;

Skor 0: Diş yüzeyinde gingival alanda plak yoktur.

Skor 1: Gözle görülebilen plak yoktur ama dişeti oluğu girişi boyunca bir sonda gezdirildiğinde sondanın ucunda plak görülür.

Skor 2: Diş yüzeyinde gingival alanda gözle görülebilen ince veya orta kalınlıkta plak vardır.

Skor 3: Diş yüzeyinde gingival alanda ve interdental bölgede gözle görülebilen kalın plak tabakası vardır.

5.5.2. Gingival indeks

Dişetin iltihabi durumu Löe ve Silness (Loe ve Silness, 1963) tarafından geliştirilen Gİ ile ölçüldü. Tüm dişlerin meziyo-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, meziyo-lingual, mid-lingual, disto-lingual olmak üzere 6 yüzünde papiller ve marjinal dişetin renk, ödem, kıvam ve kanama durumuna göre 0-3 arasında Gİ değeri verildi.

Bu indeks sistemine göre;

0- Sağlıklı dişeti

1- Hafif iltihap: Hafif renk değişikliği, hafif ödem varlığı, dişeti oluğu girişi boyunca bir sonda gezdirildiğinde kanama yok.

2- Orta derecede iltihap: Kırmızılık, ödem ve parlaklık, dişeti oluğu girişi boyunca bir sonda gezdirildiğinde kanama var.

3- Şiddetli iltihap: Belirgin kırmızılık, ödem ve parlaklık, ülserasyonlar, dişeti oluğu girişi boyunca bir sonda gezdirildiğinde kanama ve/veya spontan kanamaya eğilim var.

5.5.3. Sondalama derinliği

Her dişin meziyo-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, meziyo-lingual, mid-lingual ve disto-lingual olmak üzere 6 noktasından dişeti kenarı ile cep tabanı arasındaki mesafe periodontal sond ile ölçölerek kaydedildi.

5.5.4. Sondalamada kanama

SD ölçümünü takiben ilk 30 saniye içerisinde meydana gelen kanama, tüm dişlerin meziyo-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal ve meziyo-lingual, mid-lingual, disto-lingual olmak üzere 6 noktadan var (+) veya yok (-) şeklinde kaydedildi. Var olarak kaydedilen bölgelerin sayısı tüm ağızda değeriendirilen bölgelerin sayısına oranlanarak SK yüzdesi hesaplandı.

5.5.5. Dişeti büyümesi indeksi

5.5.5.1. Fotoğrafik dişeti büyümesi indeksi

Ellis ve ark. (Ellis ve ark., 2001) tarafından geliştirilen fotoğrafik indeks skorları kullanıldı. Ağız içi fotoğraflar Canon D 60 kamera gövdesi, Canon 100 mm F2.8 L makro lens, Sigma makro ring flash kullanılarak yaklaşık olarak 40 cm mesafe odak uzaklığında çekildi; 15 inch ekran boyutlarına sahip bilgisayarda incelendi. Dişeti büyümesi skorlaması yapıldı. Bu indeks skorları şöyledir;

Skor 0: Hiperplazi yoktur.

Skor 1: İnterdental papilde hafif düzeyde genişleme, papil ucu künt görünür.

Skor 2: Orta düzeyde genişleme, papilin lateral yönde bukkal diş yüzeyinde diş genişliğinin ¼'ünden daha azına doğru uzanır.

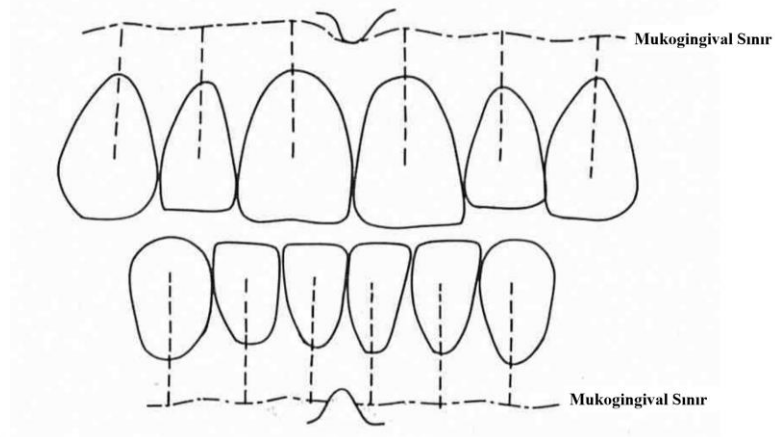
Skor 3: Papilde belirgin genişleme, diş genişliğinin ¼'ünden daha fazlasını kaplar. Normal papil formunda kayıp vardır.

Üst ve alt çenede 12 adet anterior dişlerdeki toplam 10 adet bölgesi interdental papilla bölgesi labial yüzden değerlendirildi. Bu yöntem kullanılarak yapılan ölçümlerde en yüksek skor 30 olmaktadır. Ölçülen dişeti büyümesi skoru yüzde olarak hesaplandı ve kaydedildi.

Klinik parametrelerinin ölçümlerini gerçekleştiren araştırmacının kalibrasyonu FDBİ üzerinde Cohen'in Kappa analizi ile hesaplandı, ölçümler 24 saat arayla 2 defa tekrarlandı ($\kappa = 0,83$, $p < 0,001$).

5.5.5.2. Çalışma modelinde ölçülen dişeti büyüme indeksi

Aljinat ölçü maddesi kullanılarak alınan ağız içi ölçüler alçı ile doldurularak alçı çalışma modelleri oluşturuldu. Bu alçı çalışma modeller üzerinde ölçülen Seymour ve ark. (Seymour ve ark., 1985) (Şekil 7) tarafından geliştirilen dişeti büyümesi indeksi ölçüldü. Komşu 2 dişin midbukkal noktaları arasında kalan bölüm dişeti ünitesi olarak adlandırıldı. Üst ve alt çenede anterior 12 diş içeren bölgedeki toplam 20 adet dişeti ünitesi hem bukkal hem de lingual yüzeylerden değerlendirildi. Her bir dişeti ünitesi hem vertikal olarak kuru örtme derecesine ve hem de horizontal olarak dişeti kalınlığına göre skorlandı. Skorlama sırasında 0.5 mm çapında periodontal sonda (*University of North Carolina, PCPUNC15*, Hu-Friedy Ins Co, ABD) kullanıldı.



Şekil 7. Çalışma Modelinde Ölçülen Dişeti Büyüme İndeksinin Dişeti Ünitesinin Görünümü (Seymour ve ark., 1985 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

Skorlama kriterleri aşağıda sıralanmıştır:

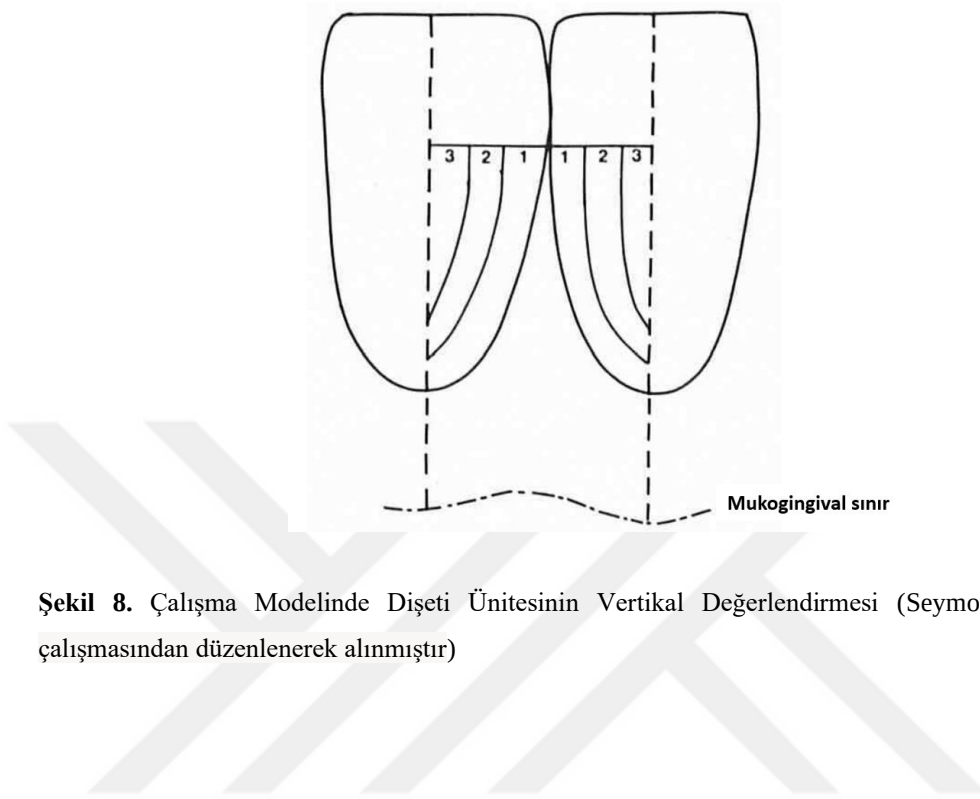
Vertikal Değerlendirme (Şekil 8)

Skor 0: Dişeti hiperplazisi yoktur.

Skor 1: Hafif derecede dişeti hiperplazisi (dişeti kenarının küntleşmesi)

Skor 2: Orta derecede dişeti hiperplazisi (kron boyunun $\frac{1}{2}$ 'sinden daha azını kaplayan)

Skor 3: Şiddetli derecede dişeti hiperplazisi (kron boyunun $\frac{1}{2}$ 'sinden daha fazlasını kaplayan)



Şekil 8. Çalışma Modelinde Dişeti Ünitesinin Vertikal Değerlendirmesi (Seymour ve ark., 1985 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

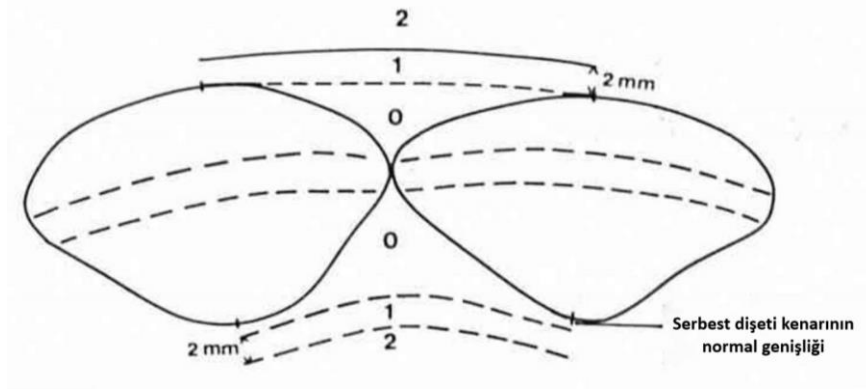
Horizontal Değerlendirme (Şekil 9)

Skor 0: Serbest dişeti kenarı normal kalınlıktadır.

Skor 1: 1 mm'ye kadar olan kalınlaşma

Skor 2: 2 mm'den fazla olan kalınlaşma

Her bir dişeti ünitesi için vertikal ve horizontal değerlendirmelerde elde edilen skorlar toplandı. Bu şekilde maksimum skor 5 olmaktadır. Ölçülen dişeti büyümesi skoru yüzde olarak hesaplanarak kaydedildi.



Şekil 9. Çalışma Modelinde Dişeti Ünitesinin Horizontal Değerlendirmesi (Seymour ve ark., 1985 çalışmasından düzenlenerek alınmıştır)

5.6. Klinik İşlemler

5.6.1. Dişeti doku örneklerinin elde edilmesi

EDB, İBDB ve HGF grubu bireylere cerrahi yapılacak bölgeye Maksikain (40 mg artikain hidroklorür, 0.006 mg epinefrin hidroklorür, Maxicaine) ile lokal infiltrasyon anestezi uygulandı. 15 numaralı bistüri bıçağı ile kemik üstü ceplerin bulunduğu bölgelerde gingivektomi operasyonu ve kemik içi ceplerin bulunduğu bölgelere flep operasyonu yapıldı. Gingivektomi yapılan bölgelerde eksternal bevel ensizyon ve flep yapılan bölgelerde sulcular ve internal bevel ensizyon uygulandı. Uygun cerrahi tekniğe göre uygulanan ensizyonlarla COPT ile elimine edilemeyen büyümüş dişeti dokuları çıkarıldı. Aynı şekilde sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerde Maksikain ile yapılan lokal infiltrasyon anestezi altında 15 numaralı bisturi kullanılan kron boyu uzatma işlemleri esnasında ile fazla dişeti dokuları çıkarıldı. Alınan dişeti örnekleri laboratuvar işlemleri için %10'luk nötral tamponlu formaldehit içerisinde 48 saat süresince muhafaza edildi.

5.7. Laboratuvar İşlemleri

Formaldehitte fikse edilen dişeti doku örnekleri yükselen alkol serilerinden geçirilerek (%70, %90, %96, %100) dehidrate edildi, toluende şeffaflaştırıldı, etüvde 60°C'de etüvdeki parafinde bir gece boyunca bekletildikten sonra oda ısısında parafin içine gömülerek bloklandı.

5.7.1. Hemotoksilen-eosin ve masson boyama

Parafin bloklardan döner mikrotom (Leica RM 2125T) ile alınan 5 µm kalınlığındaki kesitlerde genel morfolojiyi göstermek amacıyla HE boyası ile (BIO OPTİCA B005-06002/L, Milano, İtalya), bağ dokusu elemanlarının yapısını göstermek amacıyla ticari Masson Trikrom boyaması ile (BIO OPTİCA BO-04-011802, Milano, İtalya) uygulandı. Boyalı kesitler ışık mikroskobunda (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) görüntülendi ve kamera (Olympus DP72, Tokyo, Japonya) ile fotoğraflandı. Tüm kesitlerde epitel doku hasarı; bağ dokusu artışı; enflamatuvar hücre infiltrasyonu; konjesyon ve vaskülarizasyon olmak üzere 4 parametre değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirme birbirinin benzeri en az 10 alanda 20x büyütmede çalışma grupları hakkında bilgisi olmayan uzman histologlar tarafından yapıldı. Her bir parametre 0: yok, 1: hafif; 2: orta ve 3: ciddi olarak skorlandı. Her bir kesit için yapılan değerlendirmede maksimum skor 12 olmaktadır.

5.7.2. İmmünohistokimyasal boyama

Dişeti dokularında TGF-β1, SMAD-2 ve SMAD-7 immünekspresyonunu değerlendirmek için immünohistokimyasal boyama yapıldı. Parafin bloklardan döner mikrotom (Leica RM 2125T, Illinois, Amerika Birleşik Devletleri) ile 3µm kalınlığında kesilen kesitler pozitif şarjlı lamlara yerleştirildi ve 1 gece boyunca etüvde 37°C'de bekletildi. Kesitler 3 ayrı

ksilende 5'er dakika boyunca tutularak deparafinize edildi ve 2 ayrı %100 alkolden 10'ar dakika boyunca geçirilerek dehidrate edildi. Sonra endojen peroksidaz aktivitesini baskılamak için kesitler metanol içinde hazırlanmış %3'lük H_2O_2 içinde 20 dakika bekletildi. Önce musluk suyu sonra distile suda yıkama işlemini takiben dokulardaki maskelenen antijenleri açığa çıkarmak amacıyla kesitler 20 dakika boyunca 200 W mikrodalga fırında sitrat tamponunda (pH 6) bekletildi. Daha sonra oda ısısında 20 dakika boyunca soğumaya bırakılan kesitler PBS ile 2 kere 5 dakika yıkandıktan sonra non spesifik boyanmayı engellemek için protein blokaj çözeltisi (ab80436 -EXPOSE Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit, Waltham, Amerika Birleşik Devletleri) damlatılarak 10 dakika boyunca enkübe edildi. Blokajın ardından kesitlere 1:50 dilüsyon oranında TGF β 1 (TGF β 1 (TB21): sc-52893, Santa Cruz Biotechnology, Kaliforniya, Amerika Birleşik Devletleri), 1:100 dilüsyon oranında SMAD-2 (Smad2 (YZ-13): sc-101153, Santa Cruz Biotechnology, Kaliforniya, Amerika Birleşik Devletleri) ve 1:400 dilüsyon oranında SMAD-7 (Smad7 (Z8-B): sc-101152, Santa Cruz Biotechnology, Kaliforniya, Amerika Birleşik Devletleri) primer antikorları damlatılarak buzdolabında 4°C' de 1 gece bekletildi. Süre sonunda iki ayrı PBS ile yıkanan kesitler 10 dakika complement (ab80436 -EXPOSE Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit, Waltham, Amerika Birleşik Devletleri) ile oda sıcaklığında enkübe edildi. Tekrar 2 kez 5 dakika PBS ile yıkanan kesitlere Goat anti-rabbit HRP-Conjugate (ab80436 -EXPOSE Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit, Waltham, Amerika Birleşik Devletleri) sekonder antikoru uygulandı ve 15 dakika boyunca bekletildi. 2 kez 5'er dakika PBS'te yıkandıktan sonra, kesitler diaminobenzidin kromojeninde (DAB, ab80436 -EXPOSE Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit, Waltham, Amerika Birleşik Devletleri) 5 dakika bekletilerek oluşan renk reaksiyonu ışık mikroskopunda gözlendi. Distile suda yıkanan kesitlere 15 saniye Mayer Hematoksilen uygulanarak nükleer zıt boyama yapıldı. Musluk suyu ve distile su ile yıkamanın ardından %100'lük alkol ile dehidrate edilen kesitler ksilene ile şeffaflaştırıldı, entellan ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. İmmunhistokimyasal boyanmanın negatif kontrolünde primer antikör inkübasyon aşaması süresi boyunca kesitler blokaj solüsyonunda tutuldu. Diğer aşamalar aynı şekilde uygulandı. İmmunhistokimyasal

boyanmanın pozitif kontrolünde ise insan plasentası örneklerine TGF- β 1, SMAD-2 ve SMAD-7 immünohistokimya protokolü uygulandı. İmmünohistokimyasal boyanma birbirinin benzeri en az 10 alanda 20x büyütme ile deney grupları hakkında bilgisi olmayan uzman histologlar tarafından semikantitatif olarak yapıldı. Her bir örnekten x20 büyütme ile çekilen fotoğrafların sol üst ¼ alanındaki immün işaretlenme gösteren hücreler Image J programı kullanılarak sayıldı. Toplam 200 hücre 0: yok; +: hafif; ++: orta ve +++: şiddetli olarak skorlandı ve boyanmış olan hücreler % olarak ifade edildi.

Tüm kesitler, ışık mikroskobu (Olympus BX51,Tokyo, Japonya) ile görüntülendi ve kamera (Olympus DP72, Tokyo, Japonya) ile fotoğraflandı.

5.8. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 23 programında yapılmıştır.

Klinik ve demografik verilerin aritmetik ortalama ve standart sapma değerleri ile sunuldu. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edilmiştir.

Klinik ve histolojik verilerin analizinde normal dağılım göstermeyen değişkenler için gruplar arası çoklu karşılaştırmaları Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Bu test ile istatistiksel anlamlılık saptanan durumlarda gruplar arası ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı. Mann-Whitney U testi ile anlamlılığın tespit edildiği ikili karşılaştırmalarda veriler Bonferroni düzeltmesi uygulandı. Histolojik ve klinik veriler arasındaki ilişki için Spearman's Rho korelasyon katsayısı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer tüm testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Tüm Hastaların Demografik Verileri

Çalışmaya Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireyler; sistemik açıdan sağlıklı enflamatuvar dişeti büyümesi olan bireyler; antihipertansif bir ilaç grubu olan DHP'lere bağlı dişeti büyümesi tanısı konan bireyler; sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı hereditör gingival fibromatozis tanısı konan bireylerden oluşan toplam 46 birey dahil edildi. Çalışmaya katılan tüm bireylerin yaş aralığı 18-71 ve yaş ortalaması $36,1 \pm 15,05$ ' idi. Bu çalışma popülasyonunun 18'sini (%39) erkek, 28'ünü (%61) kadın bireyler oluşturdu (Tablo 8). EDB grubunda yer alan 7'si kadın, 8'i erkek toplam 15 hastanın yaş ortalaması $30,80 \pm 2,82$; İBDB grubunda yer alan 6'sı kadın 4'ü erkek toplam 10 hastanın yaş ortalaması $49,70 \pm 3,59$; HGF grubunda yer alan 5'i kadın 1'i erkek toplam 6 hastanın yaş ortalaması $30,66 \pm 5,09$ ve Kontrol grubunda yer alan 10'u kadın 5'i erkek toplam 15 hastanın yaş ortalaması $34,80 \pm 4,42$ olarak hesaplandı (Tablo 8).

Tablo 8. Tüm hastalara ait demografik veriler

	GRUPLAR				
	EDB (n=15)	İBDB (n=10)	HGF (n=6)	KONTROL (n=15)	TOPLAM (n=46)
Cinsiyet (K/E)	7/8	6/4	5/1	10/5	28/18
Yaş (Yıl)					
Ort± Ss	$30,80 \pm 2,82$	$49,70 \pm 3,59$	$30,66 \pm 5,09$	$34,80 \pm 4,42$	$36,10 \pm 15,05$
Minimum-Maksimum	18-54	30-64	18-54	18-71	18-71

EDB:Enflamatuvar dişeti büyümesi, İBDB: İlaça bağlı dişeti büyümesi, HGF: Hereditör Gingival Fibromatozis. K:Kadın, E:Erkek. Ort: Aritmetik ortalama , Ss: Standard sapma.

6.2. Klinik Değerlendirme

Tüm gruplarda COPT'si tamamlanmış bireylerin dişeti örneklerinin elde edildiği gün ölçülen klinik parametreleri Tablo 9'da görülmektedir. EDB, İBDB, HGF ve Kontrol gruplarında Pİ değerleri sırasıyla $0,96 \pm 1,00$; $0,51 \pm 0,20$; $0,43 \pm 0,20$ ve $0,76 \pm 0,30$ olarak tespit edildi; gruplar arası çoklu karşılaştırmada anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). Ortalama Gİ değerleri EDB, İBDB, HGF ve Kontrol gruplarında sırasıyla $0,74 \pm 0,70$; $0,81 \pm 0,40$; $0,73 \pm 0,40$ ve $0,58 \pm 0,30$ olarak tespit edildi; gruplar arasında istatistiksel anlamlı farkın olmadığı görüldü ($p > 0,05$). Ortalama SD değerlerinin EDB grubunda $3,04 \pm 0,60$ mm, İBDB grubunda $3,26 \pm 1,10$ mm, HGF grubunda $2,76 \pm 0,30$ mm ve Kontrol grubunda $2,19 \pm 0,30$ mm olduğu saptandı. SD'nin gruplar arası çoklu karşılaştırmada anlamlı fark olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Kontrol grubunun SD değerinin EDB'nin ($p < 0,01$) ve İBDB'nin ($p < 0,01$) gruplarından anlamlı derecede düşük olduğu görüldü. Ortalama SK değerleri EDB grubunda $\%32,57 \pm 33,60$; İBDB grubunda $\%23,13 \pm 13,90$; HGF grubunda $\%9,68 \pm 4,60$ ve Kontrol grubunda $\%6,27 \pm 5,30$ olduğu gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu görüldü ($p < 0,001$). Kontrol grubunun SK değerinin EDB ($p < 0,01$) ve İBDB ($p < 0,01$) gruplarından anlamlı derecede düşük olduğu saptandı. FDBİ değerleri EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grupları için sırasıyla $\%38,40 \pm 1,70$, $\%32,00 \pm 13,40$, $\%0 \pm 0$ ve $\%0 \pm 0$ olarak hesaplandı ve gruplar arası karşılaştırılmada anlamlı fark görüldü ($p < 0,01$). EDB ve İBDB gruplarının FDBİ değerleri, hem HGF ($p < 0,01$) hem de Kontrol ($p < 0,001$) gruplarında anlamlı derecede yüksekti. MDBİ ortalaması EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grubu için sırasıyla $\%30,27 \pm 0,30$, $\%31,60 \pm 14,30$, $\%0 \pm 0$ ve $\%0 \pm 0$ olarak ölçüldü ve gruplar arası çoklu karşılaştırmada anlamlı fark görüldü ($p < 0,01$). HGF grubunun MDBİ değerleri EDB ($p < 0,01$) ve İBDB ($p < 0,01$) gruplarından anlamlı derecede düşük olduğu görüldü. Kontrol grubunun MDBİ değerleri de EDB ve İBDB gruplarından anlamlı derecede düşüktü ($p < 0,001$).

Tablo 9. Çalışma gruplarına ait başlangıç periodontal parametreler

	EDB (n=15)	İBDB (n=10)	HGF (n=6)	Kontrol (n=15)	P#	P* EDB-İBDB	P* EDB-HGF	P* EDB-Kontrol	P* İBDB-HGF	P* İBDB-Kontrol	P* HGF-Kontrol
Pİ Min-Max (Ort±Ss)	0,24-2,68 0,96±1,00	0,21±0,84 0,51±0,20	0,20-0,79 0,43±0,20	0,39-1,33 0,76±0,30	0,113						
Gİ Min-Max (Ort±Ss)	0,12-2,00 0,74±0,70	0,17-1,50 0,81±0,40	0,15-1,11 0,73±0,40	0,16-1,16 0,58±0,30	0,512						
SD (mm) Min-Max (Ort±Ss)	2,27-4,36 3,04 ±0,60	2,13-5,76 3,26±1,10	2,24-3,16 2,76±0,30	1,70-3,00 2,19±0,30	0,000	1,000	1,000	0,001	1,000	0,003	0,158
SK (mm) Min-Max (Ort±Ss)	0-100 32,57±33,60	3,70-57,14 23,13±13,90	3,12-15,43 9,68±4,60	0-18,75 6,27±5,30	0,000	1,000	0,469	0,003	0,224	0,002	1,000
FDBİ (%) Min-Max (Ort±Ss)	13,33-86,66 38,40±1,70	10,00-46,66 32,00 ±13,40	0-0 0±0	0-0 0±0	0,001	1,000	0,001	0,000	0,006	0,000	1,000
MDBİ (%) Min-Max (Ort±Ss)	0-66 30,27±0,30	14,00-58,00 31,60±14,30	0-0 0±0	0-0 0±0	0,001	1,000	0,002	0,000	0,003	0,000	1,000

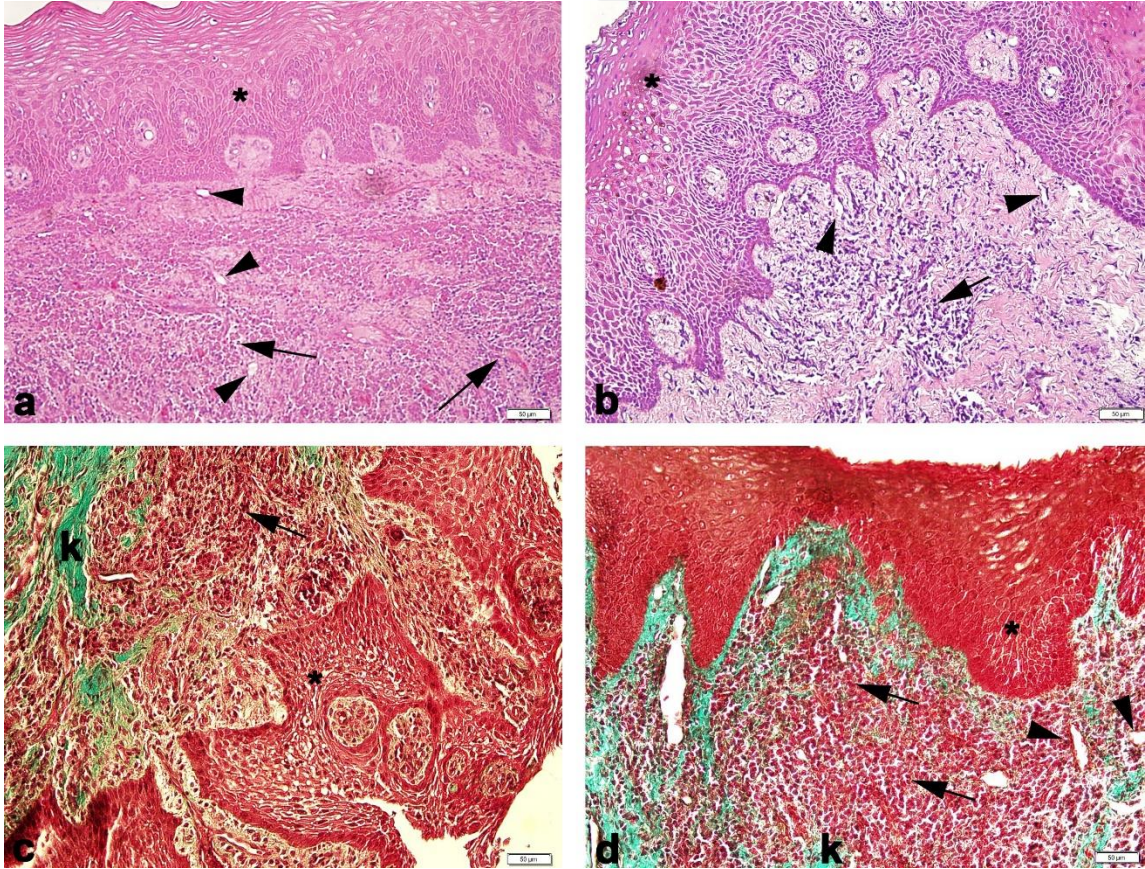
Ort: Aritmetik ortalama, Ss: Standard sapma, # Kruskal-Wallis Testi (p<0,05), * Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U Testi (p<0,05).
EDB:Enflamatuvar dişeti büyümesi, İBDB: İlaça bağlı dişeti büyümesi, HGF: Herediter Gingival Fibromatozis. Pİ: Plak indeks, Gİ:Gingival indeks, SD: Sondalama derinliği, SK: Sondalamada kanama, FDBİ: Fotoğrafik dişeti büyümesi indeksi, MDBİ: Modelde ölçülen dişeti büyümesi indeksi.

6.3. Histopatolojik Değerlendirme

Tüm çalışma gruplarına ait dişeti örnekleri HE ve Masson Trikrom boyamalarını takiben ışık mikroskopunda görsel olarak incelendi ve skorlandı.

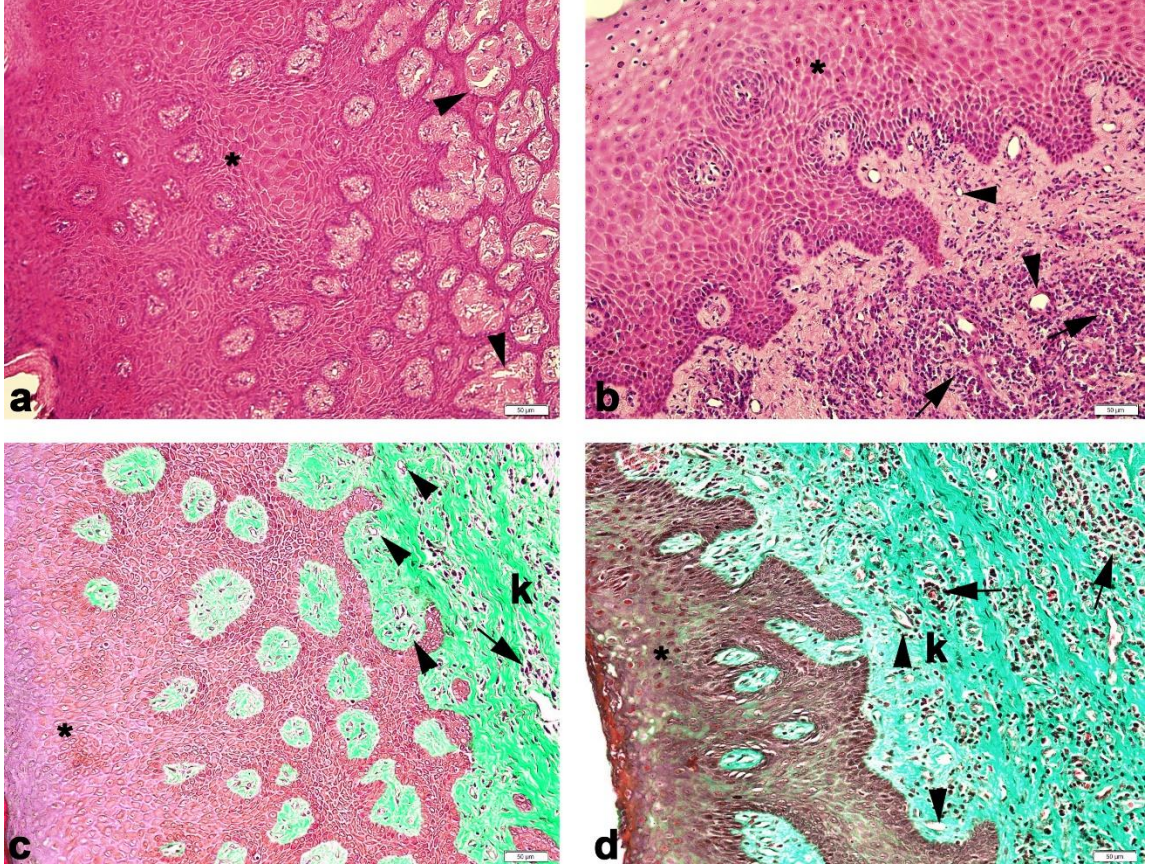
6.3.1. Histolojik kalitatif bulgular

Resim 4'te, EDB grubunu temsilen bir hastaya ait dişeti dokularının histolojik görüntüsü verilmektedir. Dişeti epitel tabakasında kalınlaşma; epitel hücreleri arasında genişleme, retepeglerde uzama ve sayısında artış, dişeti bağ dokusunda kolajen liflerin miktarı, enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve vaskülarizasyonda artış gözlemlendi.



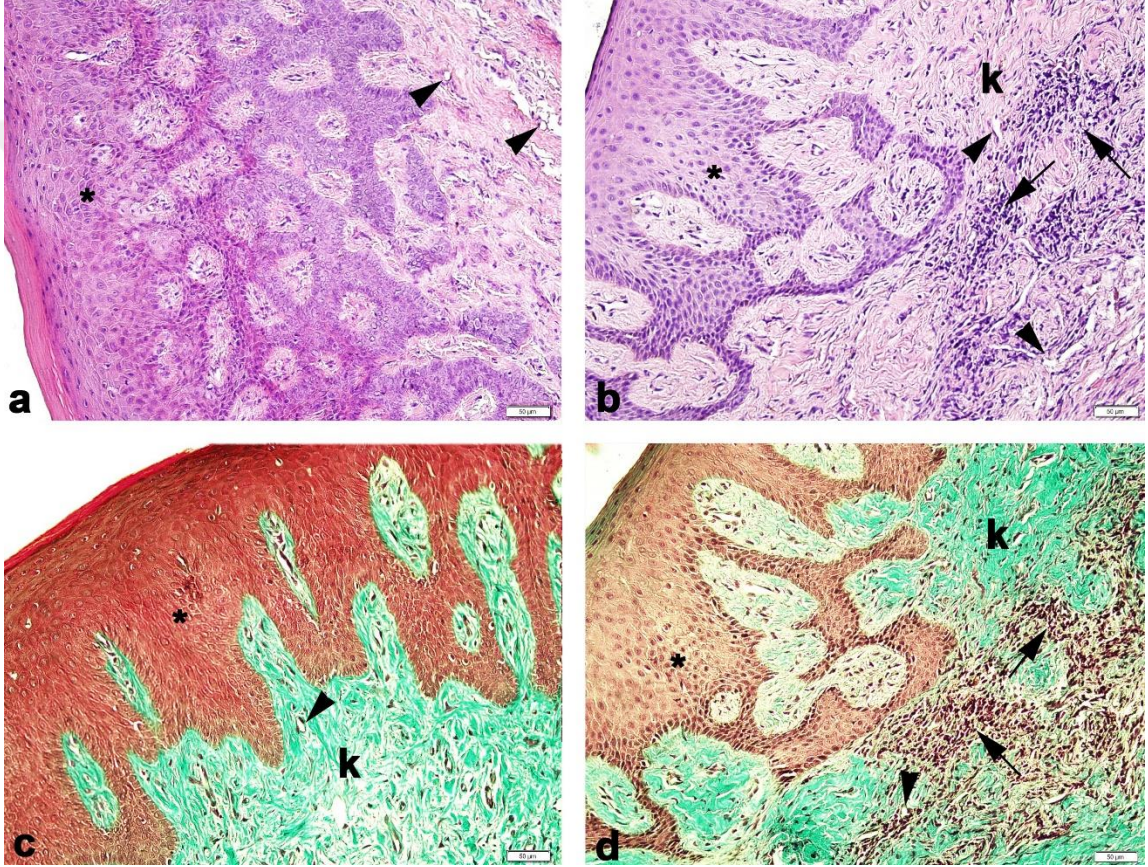
Resim 4. EDB grubuna ait **a,b)** HE ile boyanmış **c,d)** Masson Trikrom ile boyanmış kesitlerde epitelde kalınlaşma*, yoğun kolajen lifler (k), enflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok), vaskülarizasyon artışı (ok başı) (büyütme ölçeği:50 µm)

İBDB grubunu temsilen bir hastaya ait dişeti dokularının histolojik görüntüsü Resim 5’te verilmektedir. Bu doku görüntülerinde epitel tabakasının kalınlaştığı; retepeglerin uzunluğunun ve sayısının arttığı, inflamatuvar hücrelerinin infiltrasyonunun, bağ dokusu elemanlarının, kolajen liflerinin miktarının ve vaskülarizasyonun arttığı görüldü.



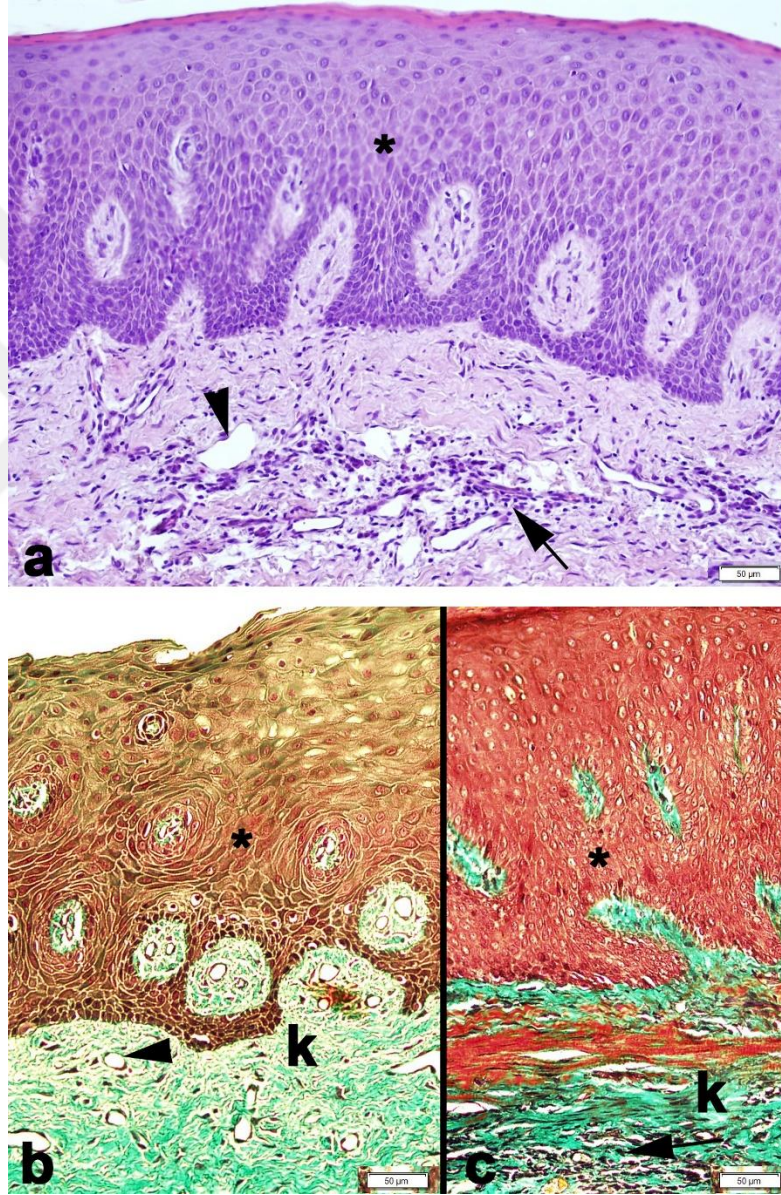
Resim 5. İBDB grubuna ait **a,b)** HE ile boyanmış ve **c,d)** Masson Trikrom ile boyanmış kesitlerde Epitel tabakasının kalınlaşması (*), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok) kolajen liflerin dağılımı (k) ve vaskülarizasyonun artışı (ok başı) (büyütme ölçeği: 50 µm).

HGF grubunu temsil eden bir hastanın dişeti dokularının histolojik görüntüsü Resim 6’da görülmektedir. Bu doku görüntülerinde epitel tabakasının kalınlaştığı; rete peglerin uzunluğunun ve sayısının, kolajen miktarının, enflamatuvar hücre infiltrasyonunun orta düzeyde ve vaskülarizasyonun hafif düzeyde arttığı gözlemlendi.



Resim 6. HGF grubuna ait **a,b)** HE ile boyanmış ve **c,d)** Masson Trikrom ile boyanmış kesitlerde Epitel tabakasının kalınlaşması (*), enflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok) kolajen liflerin dağılımı (k) ve vaskülarizasyonun artışı (ok başı) (büyütme ölçeği: 50 µm).

Kontrol grubunu temsil eden bir bireye ait dişeti dokularının histolojik görüntüsü Resim 7’de görülmektedir. Bu görüntülerde retepeglerin normal görünüme sahip olduğu; bağ dokusu ve kolajen miktarının normal seviyelerde olduğu; hafif düzeyde enflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu izlendi.



Resim 7. Kontrol grubuna ait **a)** HE ile boyanmış ve **b,c)** Masson Trikrom ile boyanmış kesitlerde Epitel tabakasının normal görünümü(*), hafif düzeyde enflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok) kolajen liflerin dağılımı (k) ve damar yapıları (ok başı) (büyütme  l eği: 50  m).

6.3.2. Histolojik kantitatif bulgular

Çalışma gruplarına ait dişeti örneklerinin histopatolojik değerlendirmesi sonucunda epitel kalınlaşması, bağ dokusu artışı, enflamatuvar hücre infiltrasyonu, vaskülarizasyon ve konjesyon skorları ile toplam histopatoloji skoru Tablo 10'da görülmektedir.

Epitel kalınlaşması skorlarının EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grupları için sırasıyla $2,84 \pm 0,82$; $2,90 \pm 0,31$; $2,50 \pm 0,54$ ve $0,40 \pm 0,50$ olduğu ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunduğu belirlendi ($p < 0,001$). İkili karşılaştırmada Kontrol grubunun epitel kalınlaşma skorunun EDB ($p < 0,001$), İBDB ($p < 0,001$) ve HGF ($p < 0,01$) gruplarından daha düşük olduğu saptandı.

Bağ dokusu artışı skorunun EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grubu için sırasıyla $1,86 \pm 0,83$; $1,70 \pm 0,48$; $1,33 \pm 0,51$ ve 0 ± 0 olduğu görüldü ve gruplar arası çoklu karşılaştırmada anlamlı fark tespit edildi ($p < 0,05$). Kontrol grubunun bağ dokusu artışı skorunun EDB ($p < 0,001$), İBDB ($p < 0,001$) ve HGF ($p < 0,05$) gruplarına göre daha az olduğu gözlemlendi.

Enflamatuvar hücre infiltrasyonu skorunun EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grubu için sırasıyla $2,53 \pm 0,99$; $2,20 \pm 1,13$; $1,00 \pm 0,63$ ve $1,60 \pm 0,91$ olarak hesaplandı. Gruplar arası çoklu karşılaştırmada enflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$). İkili karşılaştırmalarda EDB grubunun enflamatuvar hücre infiltrasyonu skorunun HGF grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Vaskülarizasyon ve konjesyon skorları EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grubu için sırasıyla $2,46 \pm 0,83$; $2,40 \pm 0,69$; $1,00 \pm 0,63$ ve $0,86 \pm 1,12$ olduğu ve gruplar arası karşılaştırmada vaskülarizasyon ve konjesyon açısından anlamlı fark belirlendi ($p < 0,05$). İkili karşılaştırmada EDB ($p < 0,05$) ve İBDB ($p < 0,05$) gruplarının vaskülarizasyon ve konjesyon değerlerinin Kontrol grubunda daha yüksek olduğu saptandı.

En yüksek toplam histopatoloji skoru $9,26 \pm 2,96$ ile EDB grubunda tespit edildi; bu grubu $9,10 \pm 2,02$ ile İBDB ve $5,83 \pm 1,32$ ile HGF grupları izledi. En düşük histopatoloji skoru $2,86 \pm 2,19$ değeri ile Kontrol grubunda idi. Gruplar arası karşılaştırmada anlamlı farkın

tespit edilmesini takiben yapılan ikili karşılaştırmada Kontrol grubu EDB ve İBDB grupları arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).



Tablo 10: Çalışma gruplarına ait histopatolojik skarlama

	EDB Ort±Ss	İBDB Ort±Ss	HGF Ort±Ss	Kontrol Ort±Ss	P# EDB-İBDB- HGF- KONTROL	P* EDB-İBDB	P* EDB-HGF	P* EDB-KONTROL	P* İBDB-HGF	P* İBDB- KONTROL	P* HGF- KONTROL
Epitel Kalınlaşması	2,84±0,82	2,90±0,31	2,50±0,54	0,40±0,50	0,000	1,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,005
Bağ Dokusu Artışı	1,86±0,83	1,70±0,48	1,33±0,51	0±0	0,000	1,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,017
Enflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	2,53±0,99	2,20±1,13	1,00±0,63	1,60±0,91	0,000	1,000	0,014	0,660	0,159	0,840	1,000
Vaskülarizasyon ve Konjesyon	2,46±0,83	2,40±0,69	1,00±0,63	0,86±1,12	0,000	1,000	0,440	0,001	0,119	0,011	1,000
Toplam Histopatoloji Skoru	9,26±2,96	9,10±2,02	5,83±1,32	2,86±2,19	0,000	1,000	0,233	0,000	0,532	0,000	0,752

Ort: Aritmetik ortalama , Ss: Standard sapma, # Kruskal-Wallis Testi (p< 0,05), * Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U Testi (p< 0,05).

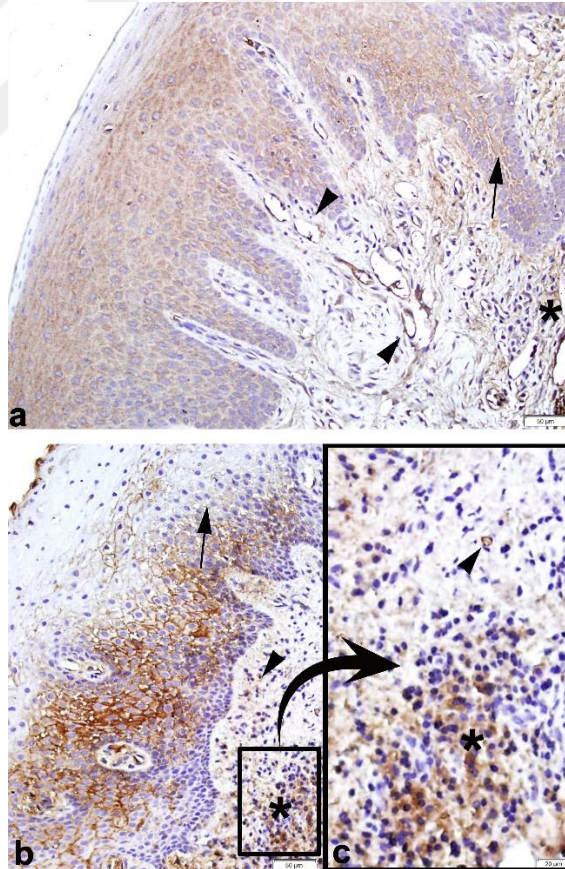
EDB:Enflamatuvar dişeti büyümesi, İBDB: İlaca bağlı dişeti büyümesi, HGF: Herediter Gingival Fibromatozis.

6.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

Tüm dişeti dokularında TGF- β 1, SMAD 2 ve SMAD 7 ekspresyonlarının hem ışık mikroskopunda görsel olarak kalitatif hem de dijital olarak kantitatif değerlendirildi.

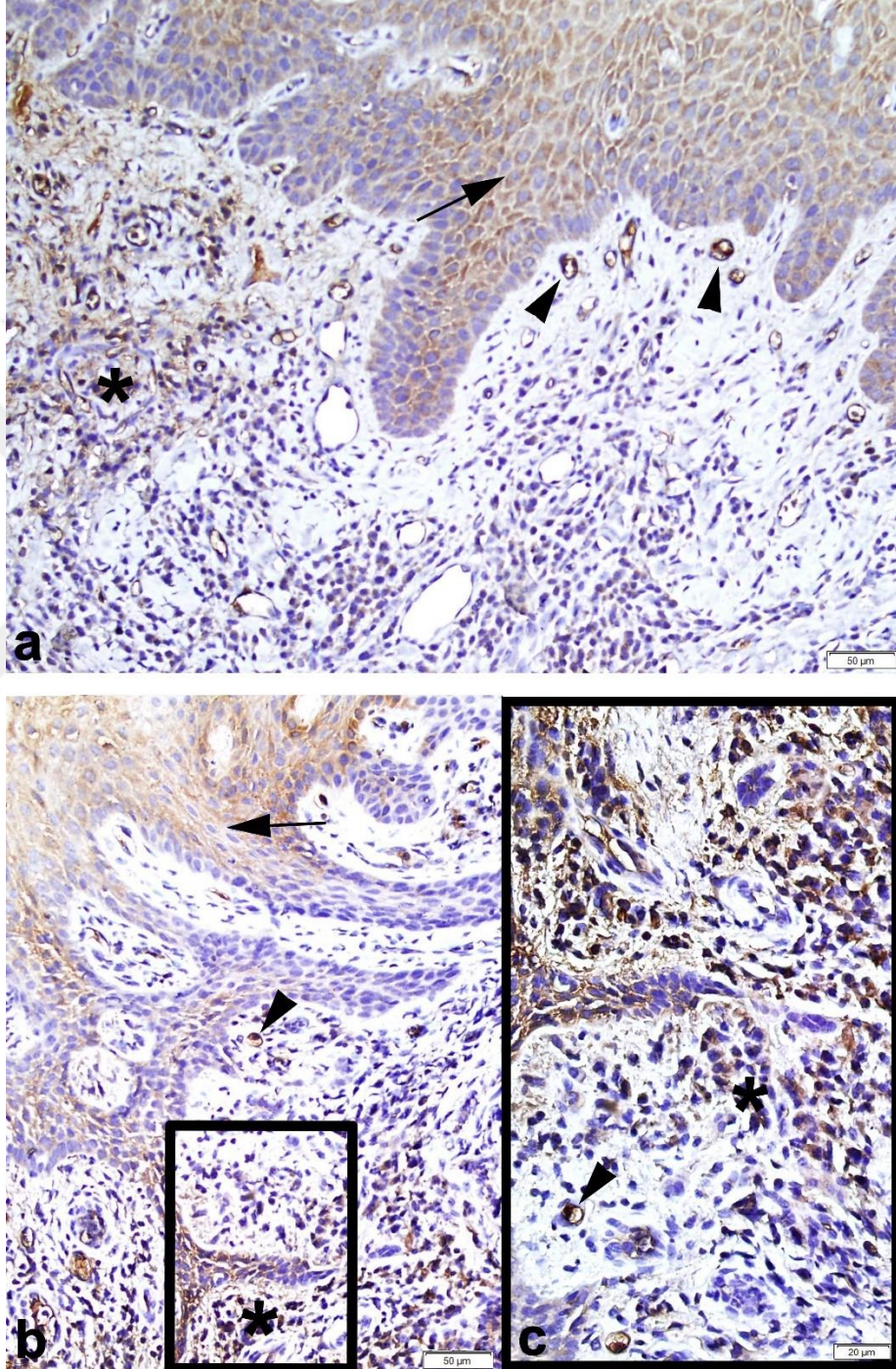
6.4.1. TGF- β 1 ekspresyonu kalitatif bulgular

Tüm örneklerinde epitel tabakasının stratum korneum tabakası hariç diğer tabakalarında, vasküler endotelial hücrelerde ve enflamatuvar hücrelerin sitoplazmasında TGF- β 1 immunreaktivitesi kahverengi olarak gözlendi. EDB grubu örneklerinde orta düzeyde boyanma epitel hücreleri, kan damarlarının endotel tabakası ve enflamatuvar hücrelerde izlendi (Resim 8a-c)



Resim 8a-c. EDB grubunda TGF- β 1 immünohistokimyasal boyanma. Epitel tabakası (ok), kan damarları endoteli (ok başı) ve enflamatuvar hücreler* (**a,b** büyütme ölçeği: 50 μ m, **c** b'nin inseti büyütme ölçeği: 20 μ m).

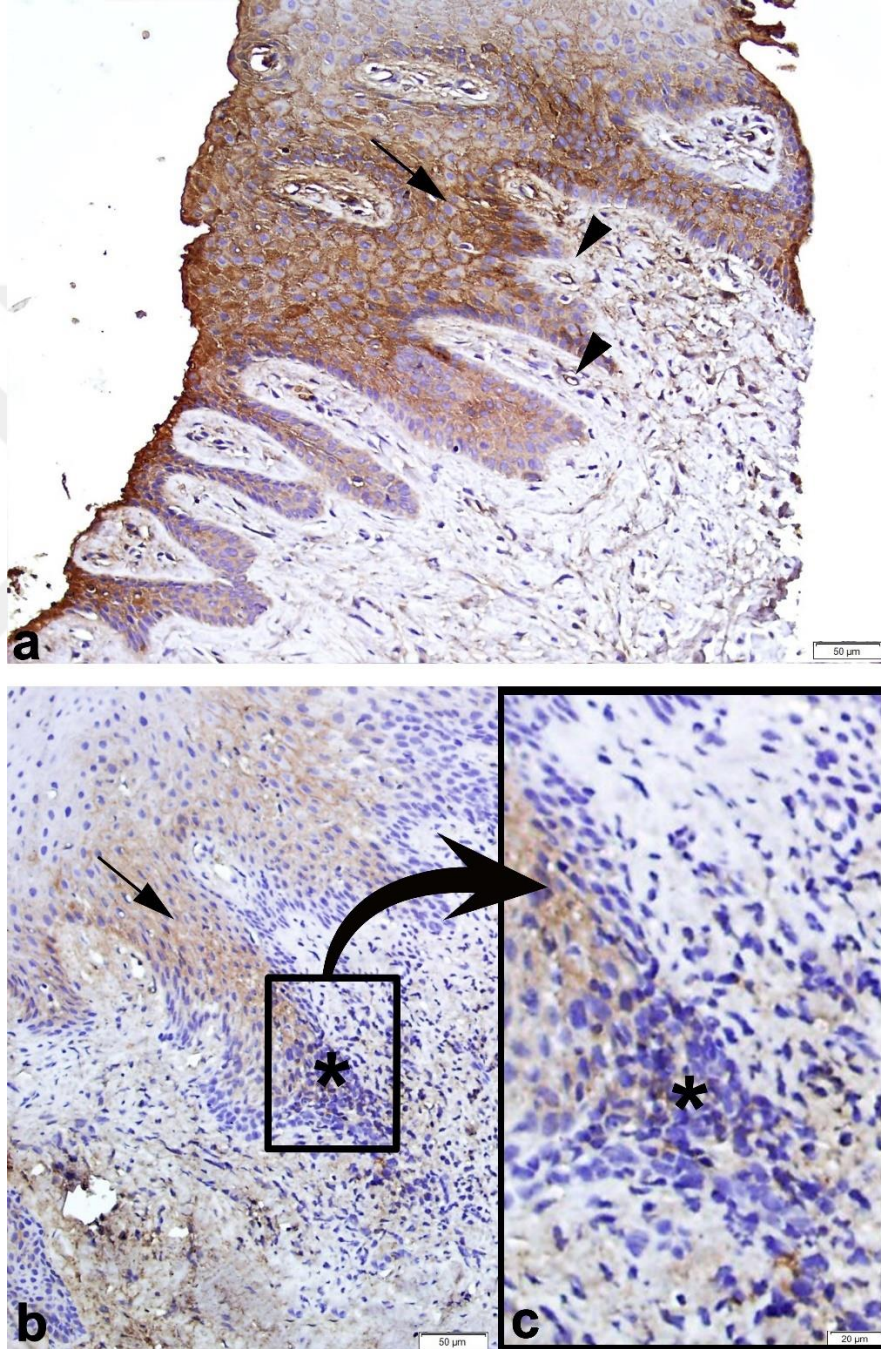
İBDB grubunda TGF- β 1 immünreaksiyonu epitel tabakasında yoğun boyanırken, kan damarları endotelinde ve enflamatuvar hücrelerde orta düzeyde idi (Resim 9a-c).



Resim 9a-c. İBDB grubunda TGF- β 1 immünohistokimyasal boyanma. Epitel tabakası (ok), kan damarı endoteli (ok başı) ve enflamatuvar hücreler (*) (**a,b** büyütme ölçeği: 50 μ m, **c** b'nin inset büyütme ölçeği: 20 μ m).

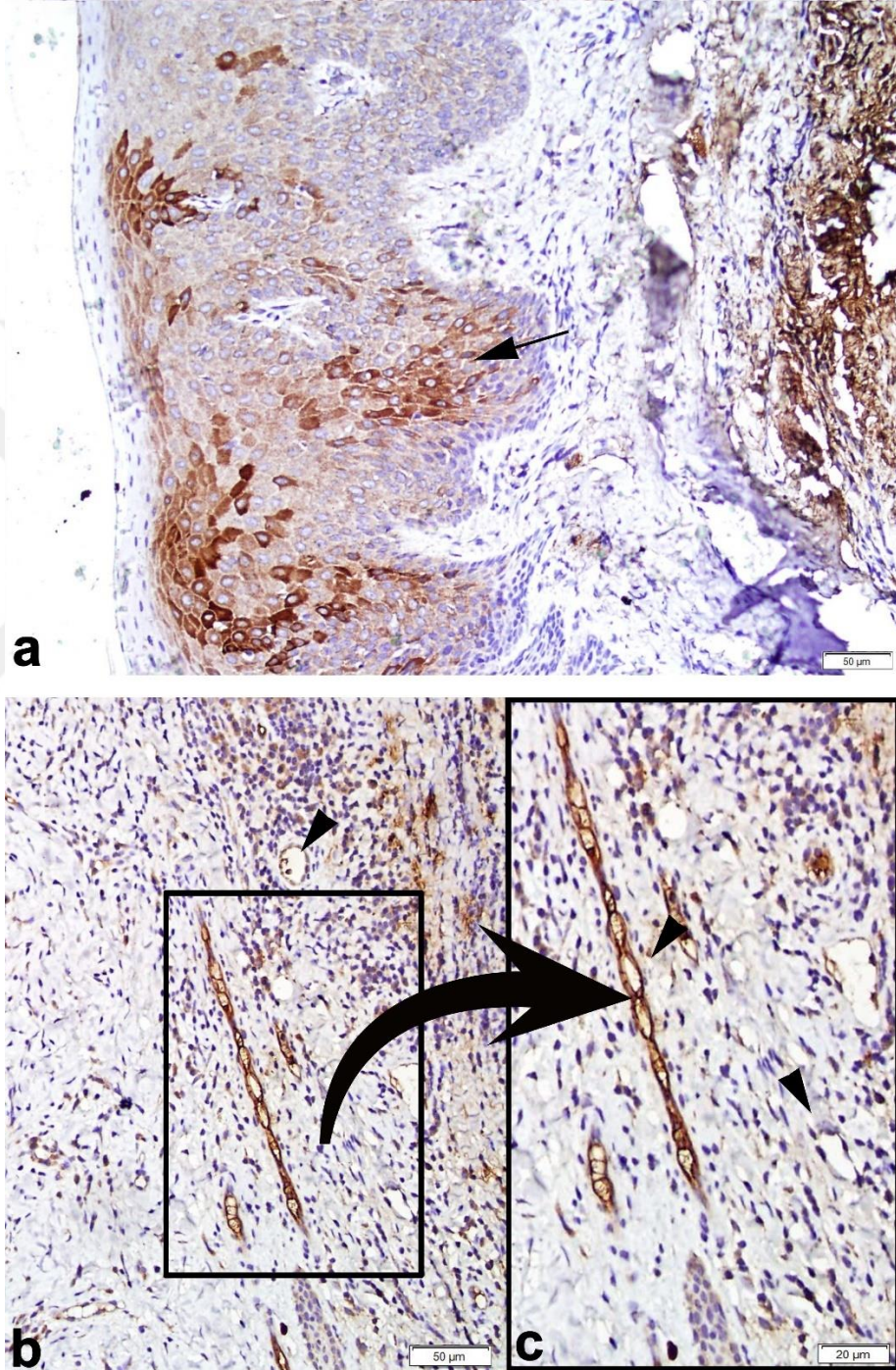


TGF- β 1 polipeptidi HGF grubunda epitel tabakasında ve kan damarları endotelinde orta düzeyde boyanırken, enflamatuvar hücrelerde hafif düzeyde boyandığı gözlemlendi (Resim 10a-c).



Resim 10a-c. HGF grubunda TGF- β 1 immünohistokimyasal boyanma. Epitel tabakası (ok) ve kan damarları endotelini (ok başı), enflamatuvar hücreler (*) (**a,b** büyütme ölçeği: 50 μ m, **c** b'nin inset büyütme ölçeği: 20 μ m).

Kontrol grubunda TGF- β 1 antikorunun epitel tabakasında, kan damarları endotelinde ve enflamatuvar hücrelerde yoğun immün pozitiflik gösterdiği görüldü (Resim 11a-c).



Resim11a-c. Kontrol grubunda TGF- β 1 immünohistokimyasal boyanma. Epitel tabakası (ok) ve kan damarları endoteli (ok başı), enflamatuvar hücreler (*) (**a,b** büyütme ölçeği: 50 μ m, **c** b'nin inset büyütme ölçeği: 20 μ m).

6.4.2. TGF- β 1 ekspresyonu kantitatif bulgular

TGF- β 1 antikoruna immün reaksiyon vermeyen derece 0 hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grubu için sırasıyla $23,33 \pm 16,40$; $19,95 \pm 12,10$; $23,75 \pm 20,70$ ve $22,27 \pm 14,60$ olarak tespit edildi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p > 0,05$). TGF- β 1 antikoru için boyanma derecesi 1 olan hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB grubunda $20,43 \pm 13,60$; İBDB grubunda $23,25 \pm 4,60$; HGF grubunda $25,17 \pm 13,10$ ve kontrol grubunda $21,77 \pm 18,20$ olarak hesaplandı, gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda anlamlı fark olmadığı görüldü ($p > 0,05$). Boyanma derecesi 2 olan hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB, İBDB, HGF ve kontrol grubu için sırasıyla $34,63 \pm 20,30$; $37,90 \pm 7,00$; $31,75 \pm 6,00$ ve $35,9 \pm 19,20$ olarak ölçüldü, gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı fark olmadığı saptandı ($p > 0,05$). Boyanma derecesi 3 olan hücrelerin yüzdeleri EDB grubu için $21,60 \pm 13,30$, İBDB grubu için $21,90 \pm 9,90$, HGF grubu için $19,33 \pm 18,30$ ve kontrol grubu için $20,07 \pm 14,00$ olarak hesaplandı, gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$).

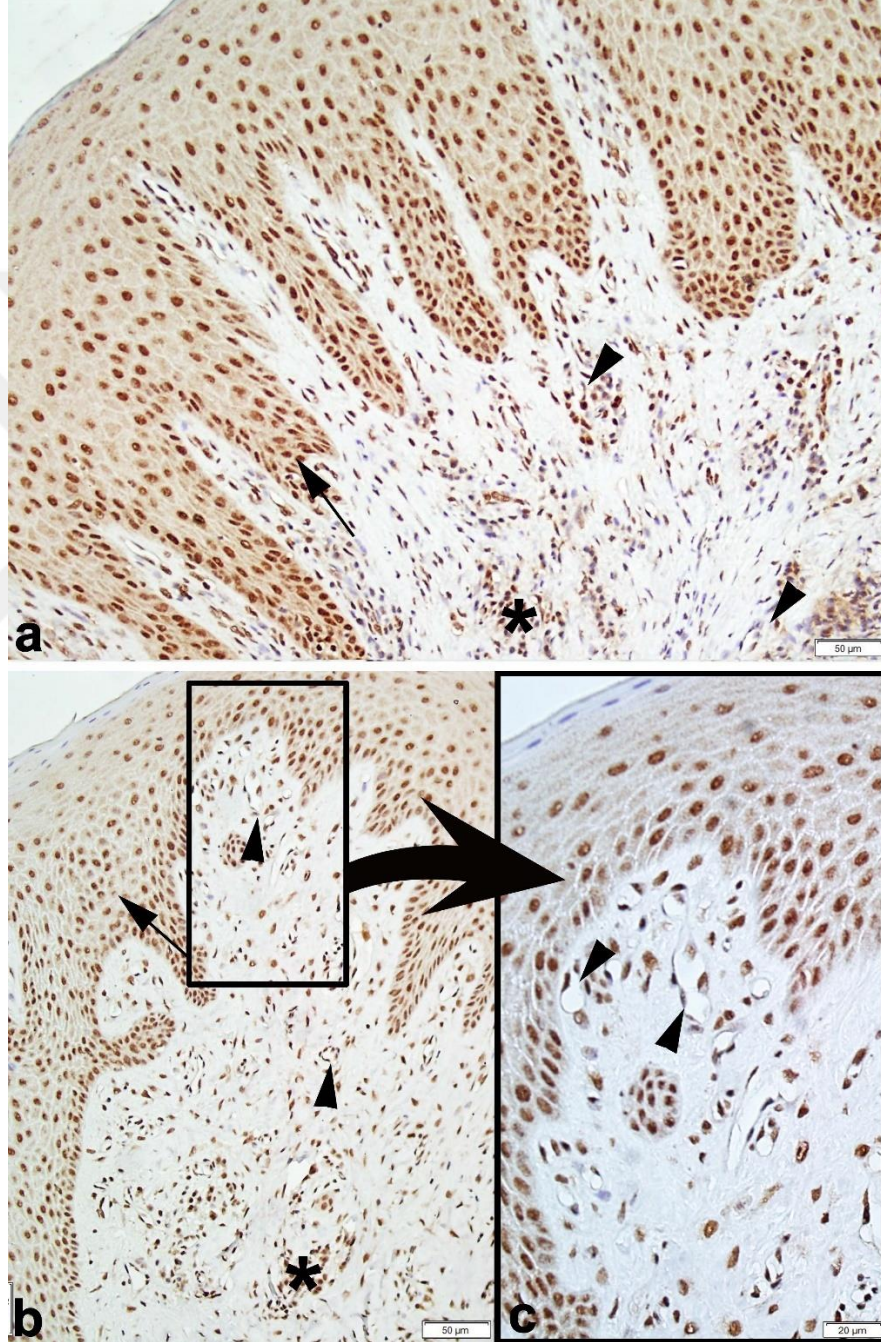
6.4.3. SMAD-2 ekspresyonu kalitatif bulgular

Tüm gruplarda epitel tabakasında, damar endoteli hücrelerinde ve enflamatuvar hücrelerin nükleusunda yoğun, sitoplazmadında ise daha hafif düzeyde SMAD-2-immün reaksiyon kahverengi olarak gözlendi.



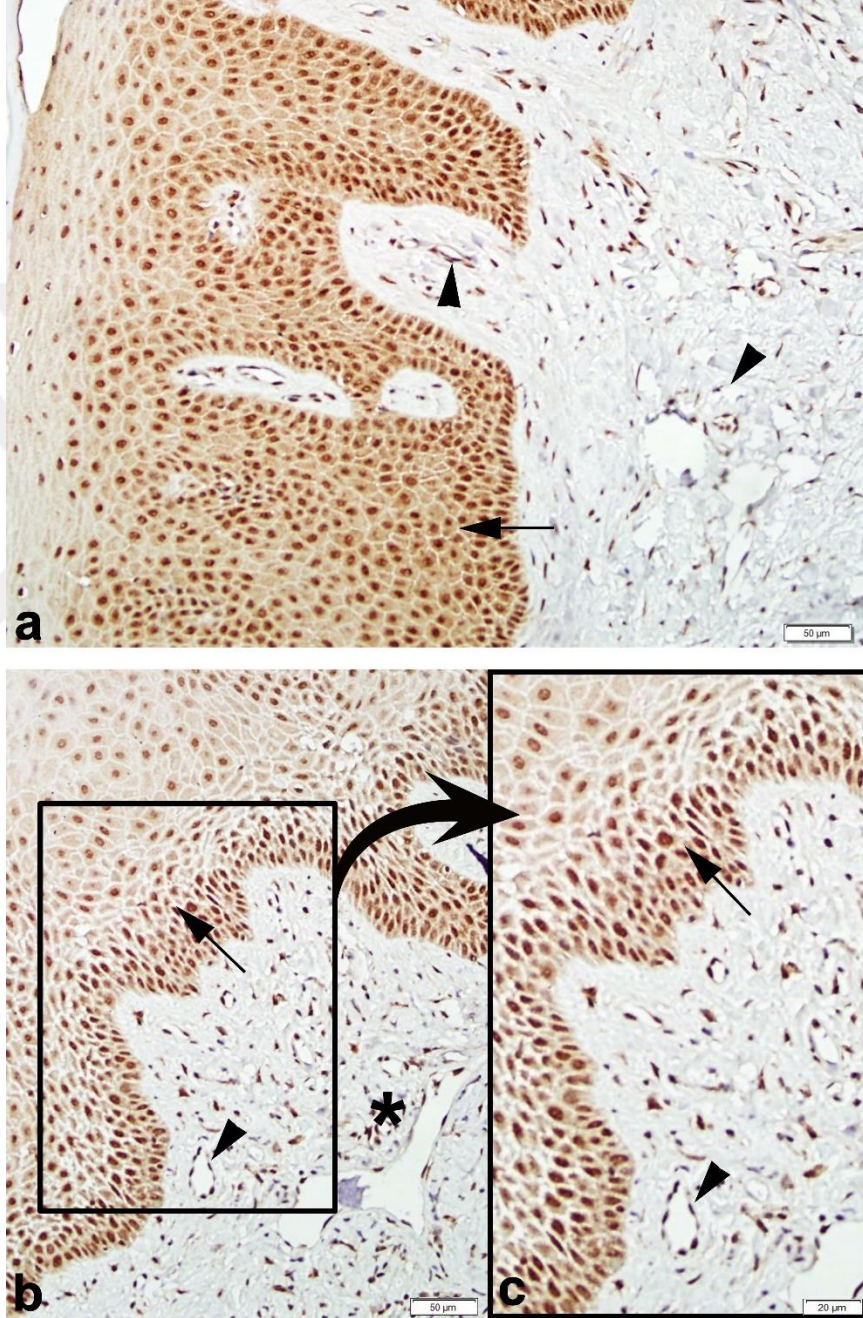
68

İBDB grubunda epitel tabakasındaki hücrelerde yoğun, enflamatuvar hücrelerde orta ve kan damarları endotel hücrelerinde çok hafif düzeyde SMAD-2 immün reaksiyon görüldü (Resim 13a-c)



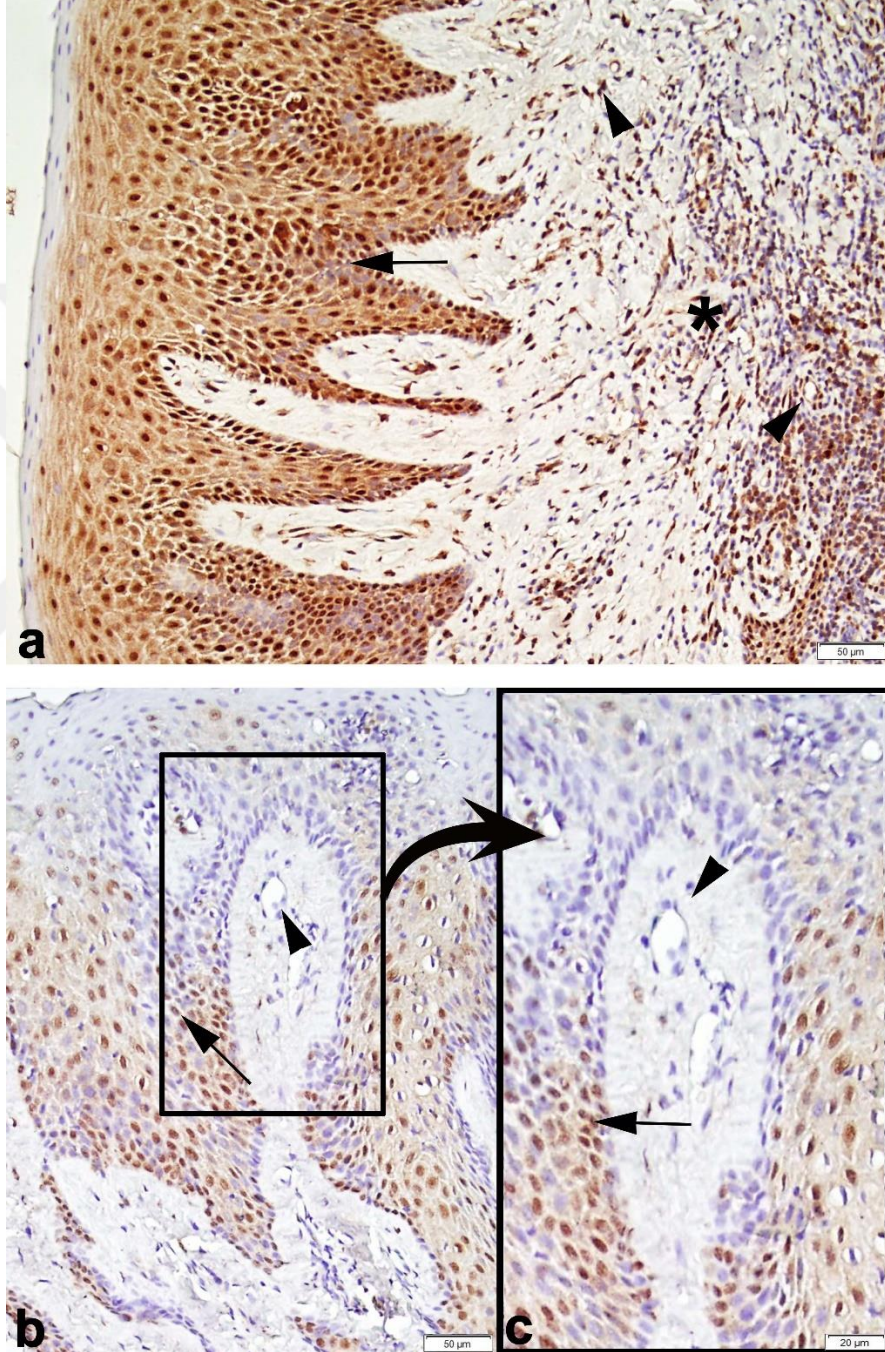
Resim 13a-c. İBDB grubunda SMAD-2 immünhistokimyasal boyanma. Epitel tabakasındaki hücreler (ok), enflamatuvar hücreler (*) ve kan damarları endotel hücreleri(ok başı) (**a,b** büyütme ölçeği: 50 µm, **c** b'nin inset büyütme ölçeği: 20 µm)

HGF grubunda epitel tabakasında yoğun, kan damarları endotelinde çok hafif düzeyde veya negatif, enflamatuvar hücrelerde ise hafif düzeyde SMAD-2 antikorunda pozitif boyanma görüldü (Resim 14a-c).



Resim 14a-c. HGF grubunda SMAD-2 immünohistokimyasal boyanma (a-c) epitel tabakası (ok), kan damarları endotelisi (ok başı), enflamatuvar hücreler (a,b büyütme ölçeği: 50 µm, c b'nin inset büyütme ölçeği: 20 µm)

Kontrol grubunda epitel tabakasındaki hücrelerde yoğun, enflamatuvar hücrelerde orta ve kan damarları endotel hücrelerinde çok hafif düzeyde SMAD-2 immünohistokimyasal boyanma görüldü (Resim 15a-c).



Resim 15a-c. Kontrol grubunda SMAD 2 immünohistokimyasal boyanma epitel tabakasındaki hücrelerde (ok), kan damarları endotel hücrelerinde (ok başı), enflamatuvar hücreler(*), (a,b büyütme ölçeği: 50 µm, c b'nin inset büyütme ölçeği: 20 µm)

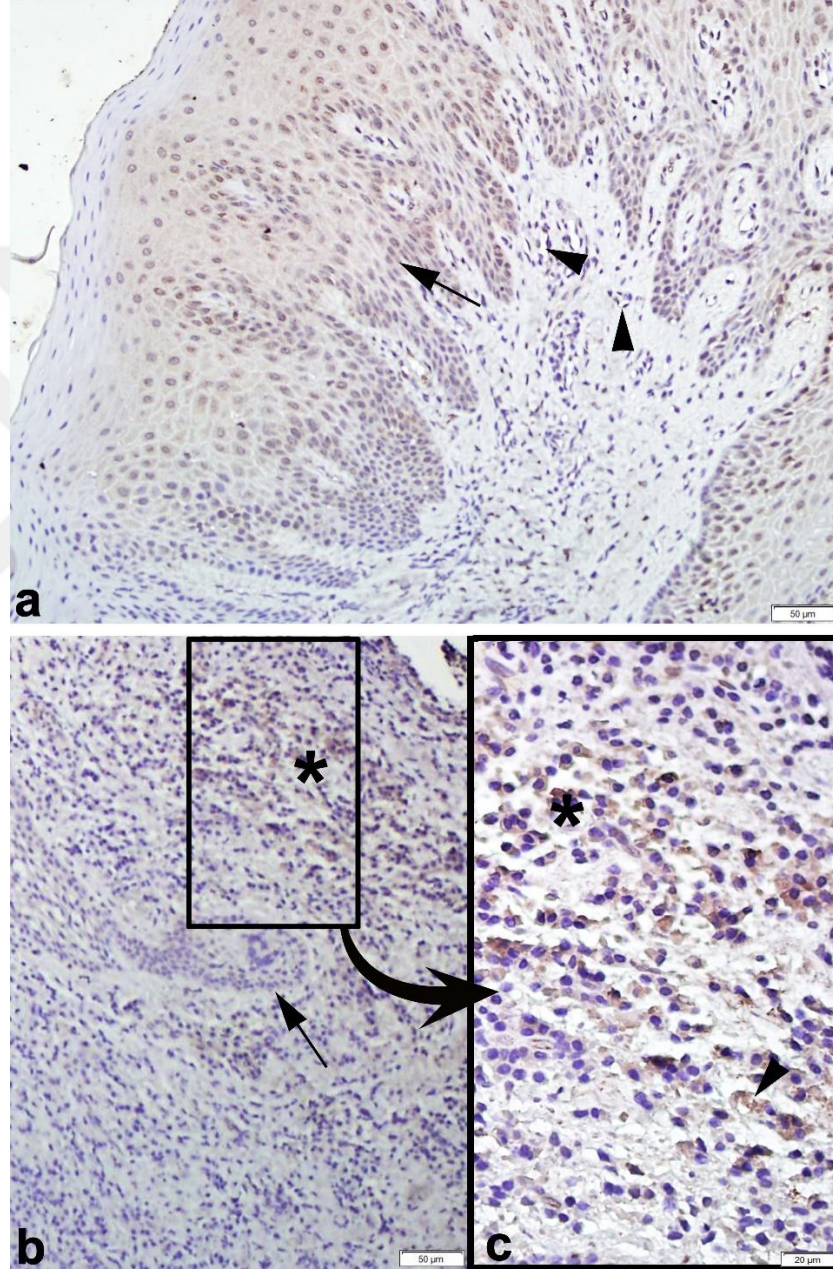
6.4.4. SMAD 2 ekspresyonu kantitatif bulgular

SMAD 2 antikoru için immün reaksiyon vermeyen hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grubu için sırasıyla $32,77 \pm 24,20$; $34,95 \pm 16,10$; $59,5 \pm 19,30$ ve $40,6 \pm 24,50$ olarak hesaplandı ve gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda anlamlı fark olmadığı görüldü ($p > 0,05$). SMAD 2 antikorusunun boyanma derecesi 1 olan hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB grubu için $12,53 \pm 12,70$, İBDB grubu için $17,4 \pm 5,80$, HGF grubu için $12,42 \pm 8,50$ ve Kontrol grubu için $15,4 \pm 9,70$ olarak saptandı ve gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı fark olmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$). SMAD 2 antikoru için boyanma derecesi 2 olan hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB grubu için $20,17 \pm 12,00$, İBDB grubu için $28,85 \pm 10,30$, HGF grubu için $17,50 \pm 7,10$ ve Kontrol grubu için $24,77 \pm 12,30$ olarak hesaplandı ve gruplar arası yapılan çoklu karşılaştırmalarda anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). Boyanma derece 3 olan hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grubu için sırasıyla $34,63 \pm 25,20$; $18,80 \pm 11,00$; $10,58 \pm 10,80$ ve $19,23 \pm 16,60$ olarak saptandı ve gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda anlamlı fark olmadığı görüldü ($p > 0,05$).

6.4.5. SMAD 7 ekspresyonu kalitatif bulgular

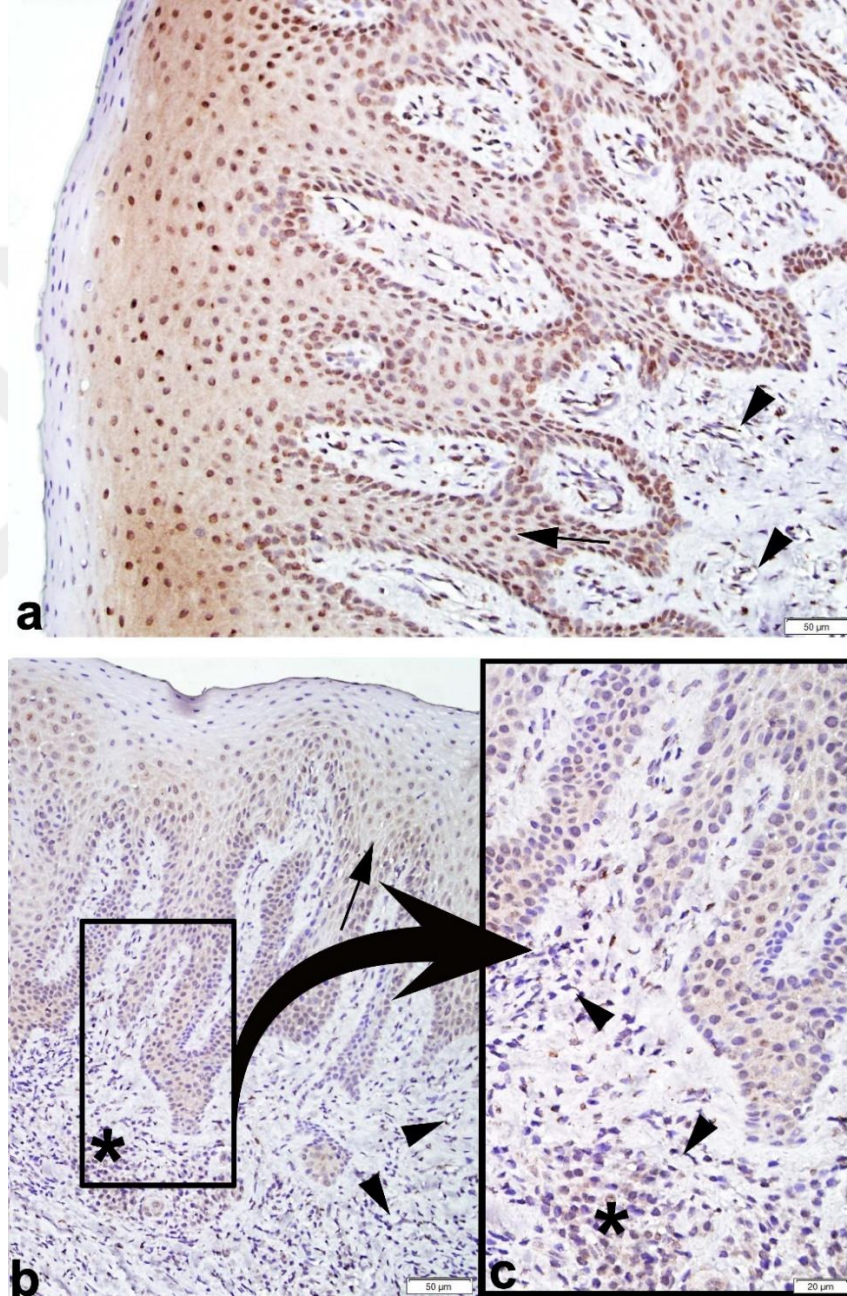
Tüm gruplarda epitel tabakasında, damar endoteli hücrelerinde ve enflamatuvar hücrelerin nükleusunda yoğun, sitoplazmasında ise daha hafif düzeyde SMAD-7-immün reaksiyon kahverengi renkte gözlemlendi.

Enflamasyon grubunda epitel tabakasındaki hücrelerde ve, enflamatuvar hücrelerde orta, kan damarları endotel hücrelerinde ise çok hafif düzeyde SMAD-7 immün reaksiyonu görüldü. (Resim 16 a-c).



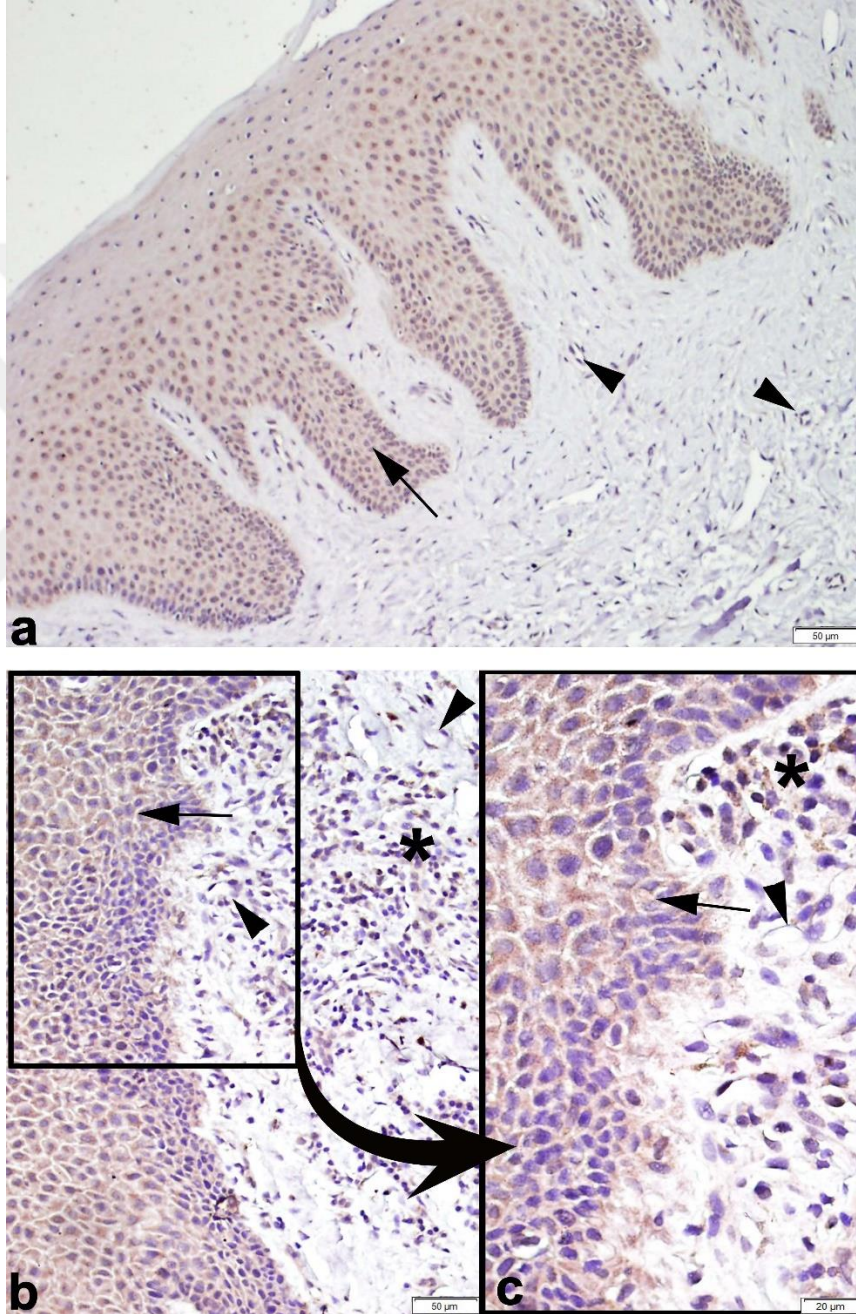
Resim 16a-c EBD grubunda SMAD-7 immünohistokimyasal boyanma. Epitel tabakasındaki hücreler (ok), enflamatuvar hücreler (*), kan damarları endotel hücrelerinde (okbaşı) (**a,b** büyütme ölçeği: 50 µm, **c** b'nin inset büyütme ölçeği: 20 µm)

İBDB grubunda epitel tabakasındaki hücrelerde ve enflamatuvar hücrelerde yoğun, kan damarları endotel hücrelerinde ise çok hafif düzeyde SMAD-7 immün reaksiyonu görüldü (Resim 17a-c).



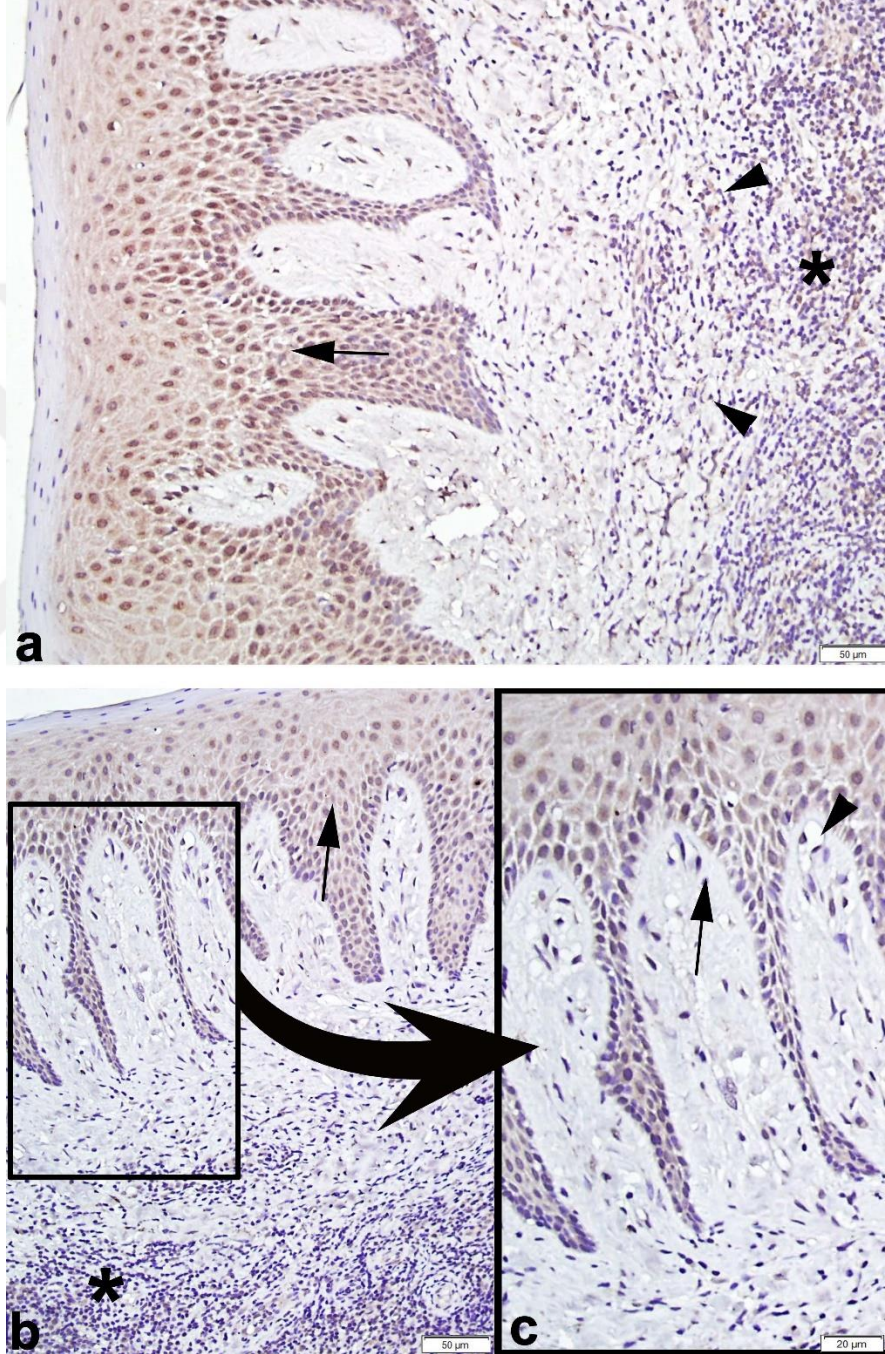
Resim 17a-c İBDB grubunda (a-c) SMAD-7 immünohistokimyasal boyanma. Epitel tabakasındaki hücreler (ok), enflamatuvar hücreler(*), kan damarları endotel hücreleri(ok başı) (a,b büyütme ölçeği: 50 µm, c b'nin inset büyütme ölçeği: 20 µm)

HGF grubunda epitel tabakasında ve enflamatuvar hücrelerde orta, kan damarları endotelinde ise çok hafif düzeyde hafif düzeyde SMAD-7 immün reaksiyon görüldü Bazı hasta örneklerinde enflamatuvar hücrelerde yoğun SMAD-7-immün reaksiyon görüldü (Resim 18a-c).



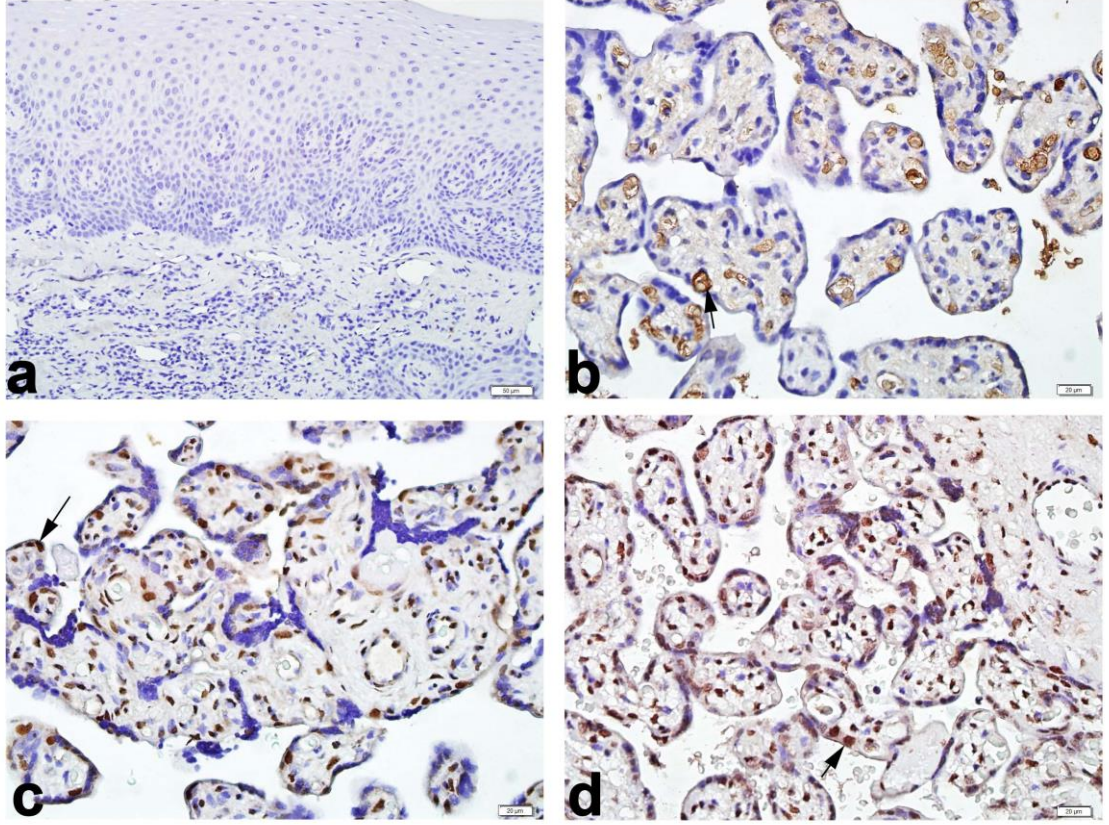
Resim 18a-c HGF grubunda SMAD-7 immünohistokimyasal boyanma. Epitel tabakasındaki hücreler (ok), enflamatuvar hücreler (*), kan damarları endotelinde (ok başı) (**a,b** büyütme ölçeği: 50 µm, **c** b'nin inset büyütme ölçeği: 20 µm)

Kontrol grubunda epitel tabakasındaki hücrelerde yoğun, enflamatuvar hücrelerde orta ve kan damarları endotel hücrelerinde çok hafif düzeyde SMAD-7 immün reaksiyon görüldü (Resim 19 a-c).



Resim 19a-c Kontrol grubunda SMAD-7 immünohistokimyasal boyanma epitel tabakasındaki hücreler (ok), enflamatuvar hücrelerde (ok başı), kan damarları endotel hücrelerinde (*) (**a,b** büyütme ölçeği: 50 µm, **c** b'nin inset büyütme ölçeği: 20 µm)

Negatif kontrol grubunda dişetinde immün boyanma görülmemektedir (Resim 20a). Pozitif kontrol gruplarında plasentada TGF-beta (Resim 20b), SMAD-2 (Resim 20c) ve SMAD-7 (Resim 20d) pozitif boyanmış hücrelerde (ok) izlendi.



Resim 20. (a) Dişetinde negatif kontrol boyama (büyütme  l eği: 50  m). **(b)** İnsan plasentası TGF-beta, **(c)** SMAD-2 ve **(d)** SMAD-7 boyama (ok). (Büyütme  l eği: 20  m)

6.4.6. SMAD 7 ekspresyonu kantitatif bulgular

SMAD 7 antikoru ile immün reaksiyon vermeyen hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB, İBDB, HGF ve Kontrol grubu için sırasıyla %68,10 21,00, %49,75 20,70, %78,83 22,00 ve %59,10 22,10 olarak hesaplandı ve gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Takiben gerçekleştirilen ikili karşılaştırmalarda EDB-İBDB grubu, EDB-HGF grubu, EDB-kontrol grubu, İBDB-HGF grubu, İBDB-kontrol grubu ve HGF-kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmadı

($p>0,05$) (Tablo 6.) Boyanma derecesi 1 olan hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB grubu için $22,97\pm18,20$, İBDB grubu için $27,75\pm14,90$, HGF grubu için $13,75\pm13,60$ ve kontrol grubu için $24,67\pm16,70$ olarak hesaplandı ve gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Boyanma derecesi 2 olan hücrelerin yüzdelerinin ortalama değerleri EDB, İBDB, HGF ve kontrol grubu için $8,03\pm9,70$; $21,00\pm16,40$; $9,58\pm13,60$ ve $7,33\pm11,00$ olarak ölçüldü ve gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$) Boyanma derecesi 3 olan hücrelerin oranları EDB için $0,90\pm3,50$; İBDB için $1,50\pm4,70$; HGF grubu için 0 ± 0 ve kontrol grubu için $2,17\pm3,40$ olarak saptandı ($p>0,05$).

Tablo 11. Çalışma Gruplarının İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları

Antikor	Boyanma Derecesi	(%)(Ort $\pm$ SD)				P*
		EDB (n=15)	İBDB (n=10)	HGF (n=6)	Kontrol (n=15)	
TGF- β 1	0	23,33 $\pm$ 16,40	19,95 $\pm$ 12,10	23,75 $\pm$ 20,70	22,27 $\pm$ 14,60	0,971
	1	20,43 $\pm$ 13,60	23,25 $\pm$ 4,60	25,17 $\pm$ 13,10	21,77 $\pm$ 18,20	0,223
	2	34,63 $\pm$ 20,30	37,90 $\pm$ 7,00	31,75 $\pm$ 6,00	35,90 $\pm$ 19,20	0,746
	3	21,60 $\pm$ 13,30	21,90 $\pm$ 9,90	19,33 $\pm$ 18,30	20,07 $\pm$ 14,00	0,868
SMAD-2	0	32,77 $\pm$ 24,20	34,95 $\pm$ 16,10	59,50 $\pm$ 19,30	40,60 $\pm$ 24,50	0,062
	1	12,53 $\pm$ 12,70	17,40 $\pm$ 5,80	12,42 $\pm$ 8,50	15,40 $\pm$ 9,70	0,263
	2	20,17 $\pm$ 12,00	28,85 $\pm$ 10,30	17,50 $\pm$ 7,10	24,77 $\pm$ 12,30	0,146
	3	34,63 $\pm$ 25,20	18,80 $\pm$ 11,00	10,58 $\pm$ 10,80	19,23 $\pm$ 16,60	0,100
SMAD-7	0	68,10 $\pm$ 21,00	49,75 $\pm$ 20,70	75,83 $\pm$ 22,20	59,17 $\pm$ 23,10	0,035
	1	22,97 $\pm$ 18,20	27,75 $\pm$ 14,90	13,75 $\pm$ 13,60	24,67 $\pm$ 16,70	0,354
	2	8,03 $\pm$ 9,70	21,00 $\pm$ 16,40	9,58 $\pm$ 13,60	7,33 $\pm$ 11,00	0,174
	3	0,90 $\pm$ 3,50	1,50 $\pm$ 4,70	0 $\pm$ 0	2,17 $\pm$ 3,40	0,171

Ort: Aritmetik ortalama , Ss: Standard sapma,* Kruskal-Wallis testi ($p<0,05$). EDB:Enflamatuvar dişeti büyümesi, İBDB: İlaça bağlı dişeti büyümesi, HGF: Herediter Gingival Fibromatozis. TGF β 1:Transforme edici büyüme faktörü- β 1

Tablo 12. SMAD 7 antikorunun 0 derecesinde boyanmasının gruplar arası ikili karşılaştırması

SMAD-7 0 Boyanma (%) Ort±Ss	EDB (n=15)	İBDB (n=10)	HGF (n=6)	Kontrol (n=15)	P*	P⁺EDB- İBDB	P⁺EDB- HGF	P⁺EDB- KONTROL	P⁺İBDB- HGF	P⁺İBDB- KONTROL	P⁺HGF- KONTROL
	68,10 ± 21,00	49,75 ± 20,70	75,83 ± 22,20	59,17 ± 23,10	0,035	0,074	1,000	1,000	0,066	0,378	1,000

Ort: Aritmetik ortalama , Ss: Standard sapma, * Kruskal-Wallis Testi (p<0,05), + Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U Testi (p<0,05).
EDB:Enflamatuvar dişeti büyümesi, İBDB: İlaça bağlı dişeti büyümesi, HGF: Hereditör Gingival Fibromatozis.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dişeti büyümesi, dişeti dokularındaki boyutsal artışı ifade eden patolojik bir durumdur. Enflamasyon, bazı ilaçların yan etkisi, sistemik hastalıklar veya durumlar ve neoplazi bu patolojinin oluşumu ve gelişiminde etkili olan etiyolojik faktörlerdir (Kantarci ve ark., 2019). Etiyopatogenezinin göre dişeti büyümeleri, EDB, İBDB, sistemik hastalıklarla ilişkili dişeti büyümeleri, neoplazmalar ve HGF olarak sınıflandırılmaktadır (Carranza ve Hogan, 2015). Çalışmamıza dahil edilen dişeti büyümesi tiplerinden biri olan EDB, MDP'ye uzun süre maruziyete bağlı olarak dişeti dokularının kronik enflamasyonu sonucunda oluşur (Beaumont ve ark., 2017). Literatürde enflamasyon sırasında süregelen biyokimyasal yolların ve dokuların histolojik değişiminin incelendiği birçok çalışma mevcuttur (Oliver ve ark., 1969; Payne ve ark., 1975; Page ve Schroeder, 1976). Dokuların geçirdiği enflamatuvar süreci detaylı olarak inceleyen Fiorellini ve ark. (Fiorellini ve ark., 2015), enflamasyonun sırasıyla başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyon olarak dört aşamadan oluştuğunu bildirmiştir. Dişeti enflamasyonu bu karmaşık biyokimyasal süreçlerden geçerek klinik olarak teşhis edilebilir hale gelir. Bu süreçlerden ilki olan başlangıç aşamasında, kötü ağız hijyeni sonucu biriken MDP etkisiyle bağ dokusundaki vazoaaktif mediyatörler ile vazodilatasyon uyarılır. Enflame bölgeye gelen kan akımının artmasıyla nötrofil ve lenfosit hücreleri dişeti bağ dokusuna göç ederek kolajen yıkımı ve fibroblast hücrelerinin dejenerasyonu gerçekleşir. Hafif düzeyde büyüme gözlenmesiyle dişeti dokuları erken lezyon aşamasına geçmiş olur. MDP'nin dişeti oluşu içerisinde daha fazla birikmesiyle bir sonraki süreç olan ve enflamatuvar hücre infiltrasyonunun daha yoğun görüldüğü yerleşik lezyon gelişir. Aynı zamanda damar geçirgenliğinin artışı ve kan sıvısının damar dışına çıkışıyla ekstraselüler matrikste plazma proteinleri bakımından zengin enflamatuvar eksüda birikir. Böylece ödem gelişmesi sonucu dişeti dokularında boyutsal değişimler gözlenir. EDB; dişeti dokularında kuronal yönde büyüyen ve yalancı cepler oluşturan patolojik oluşumlar olarak kendini gösteren, kronik gingivitis tablosunun klinik bir bulgusudur. Literatürde periodontal hastalıkların patogenezi ve enflamatuvar süreçler yoğun olarak araştırılmasına rağmen, bu hastalıkların dikkat çekici bulgularından biri olan EDB patogenezinin incelendiği bir

çalışma bulunmamaktadır. EDB'den yalnızca dişeti hastalıklarının bir bulgusu veya etiyolojik faktör olarak bahsedilmiş, bu büyümenin gelişmesinde rol alan süreçler izole olarak incelenmemiştir. Mevcut çalışmada literatürdeki bu eksiklikten yola çıkılarak dişeti büyümesi gruplarından birini EDB gösteren hastalar oluşturdu. Kurgan ve Kantarcı (Kurgan ve Kantarci, 2018), MDP'nin dişeti dokularında zaman içerisinde meydana getirdiği kümülatif etkinin EDB'nin enflamatuvar içeriğini oluşturduğunu belirtirken aynı zaman kronik enflamasyona bağlı fibrotik değişimler görüldüğünden bahsetmiştir. Araştırmacılar, EDB'de kolajenaz miktarının azalması paralel olarak kolajen ile diğer ekstraselüler matriks proteinlerinin dokudaki birikimi düşük miktarda olması fibrotik içeriği sınırlandırmaktadır (Fiorellini ve ark., 2015). Enflamasyondan bağımsız olarak dişeti dokularındaki fibrozis mekanizmasının, ilaç kullanımı, sistemik hastalıklar ve genetik faktörlerin etkisiyle indüklenerek dişeti büyümesinin ortaya çıkmasında etkili olabileceği rapor edilmiştir (Trackman ve Kantarcı, 2015; Kurgan ve Kantarci, 2018). Ancak bütün bu bilgilere rağmen, fibrozis mekanizmasının enflamatuvar süreçlerdeki rolü halen incelenmeye açık bir konudur.

Dişetinde fibrozis ile karakterize dişeti büyümesi, antikonvülzanlar, immünsupresifler ve KKB'ler olmak üzere 3 grup ilacın yan etkisi sonucu gelişebilir (Hallmon ve Rossmann, 1999). İBDB'nin ilk rapor edilmesi antikonvülzan ilaçlarda 1939 yılında (Kimball, 1939), immünsupresiflerde 1983 yılında (Rateitschak-Plüss ve ark., 1983) ve KKB'lerde 1984 yılında (Ramon ve ark., 1984) gerçekleşmiştir. Ramirez-Ramiz ve ark. (Ramirez-Ramiz ve ark., 2017) bir derlemede, ilaç kullanımını takiben 3. ayda İBDB'nin klinik olarak belirginleştiğini, interdental papiller bölgeden başlayarak serbest dişeti kenarı boyunca ilerlediğini ve bu patolojinin 12. ayda en şiddetli evresine ulaştığını tespit etmişlerdir. Baskın fibrotik karaktere sahip olan bu büyümelerde, MDP birikimi için uygun ortamın oluşmasıyla enflamasyon da eklenebilir. Uzel ve ark. (Uzel ve ark., 2001), farklı ilaç tiplerinin neden olduğu dişeti büyümesi lezyonlarının enflamatuvar ve fibrotik içeriklerinin değişkenlik gösterdiğini, bu nedenle lezyonların boyut ve karakterlerinin de farklı olabileceğini bildirmiştir. İBDB ile ilgili vaka raporlarında, her bir ilaç tipinin neden olduğu dişeti büyümesinde farklı farmakolojik, moleküler ve hücresel süreçlerin rol aldığı

ve bu patolojilerin farklı prevalanslara sahip olduğu bildirilmiştir (Ellis ve ark., 1999; Gopal ve ark., 2015). Bu sebeple İBDB'nin altında yatan mekanizmayı daha iyi anlamak amacıyla dişeti büyümesi yan etkisi olan ilaçlar ayrı ayrı incelenmiştir (Hallmon ve Rossmann, 1999). Bu ilaç gruplarından biri olan KKB'lerin çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde giderek artan sayıda reçete edilmesiyle İBDB prevalansında artış göstermektedir (Gopal ve ark., 2015). Literatürde dişeti büyümesi yan etkisi olan KKB'lerin prevalans oranlarının nifedipin için %6 -%83, amlodipin için % 3,3-%31.4 , verapamil için %4,1-%21 ve diltiazem için %31-74 arasında değiştiği görülmektedir (Fattore ve ark., 1991; Jorgensen, 1997; Ellis ve ark., 1999; Miranda ve ark., 2005; Gopal ve ark., 2015). Çalışmalar sıklıkla dihidropiridin grubu içerisinde yer alan nifedipin ve amlodipin üzerinde yoğunlaşmıştır, verapamil ve diltiazem ile ilgili yapılan çalışmaları ise sınırlı sayıdadır (Fattore ve ark., 1991; Miller ve Damm, 1992; Miranda ve ark., 2005). Bu çalışmaya en yüksek prevalansa sahip olduğu görülen dihidropiridin grubu ilaçlara bağlı dişeti büyümesine sahip bireyler dahil edildi.

Dişeti dokularında fibrotik değişimin görüldüğü diğer bir büyüme tipi olan HGF'nin, genetik olarak otozomal dominant geçiş karakterine sahip olduğu ve aynı ailede farklı bireylerde de görüldüğü rapor edilmiştir (Coletta ve Graner, 2006). İlk kez 1856 yılında (Goddard, 1856) HGF'nin tanımı yapılmış olsa da bu patolojinin toplumdaki prevalansının düşük olması sebebiyle elde edilen bilgiler çoğunlukla vaka raporlarıyla sınırlıdır. Fletcher'ın (Fletcher, 1966) HGF üzerine yaptığı bir çalışmada ortaya koyduğu 1/175.000 olarak bildirilen prevalans oranı bu durumu destekler niteliktedir. Ancak günümüz koşullarında gelişen klinik muayene ve farklı biyokimyasal analiz yöntemleriyle bu durumun daha iyi incelenmesi mümkün olabilmektedir. Pego ve ark. (Pego ve ark., 2015), HGF'nin lokal olarak maksilla tuber bölgesi ve mandibula molar dişlerin bukkal bölgesinde veya tüm ağızda görülebildiğini bildirmiştir. HGF'nin klinik görünümü bireyler arasında lokal ya da generalize olarak farklılık gösterse de büyümüş dişeti dokuları, sıkı, tıknaz, sert, kıvamlı, kanamayan ve asemptomatik özelliklere sahip olup estetik ve fonksiyonel problemlere yol açabilmektedir. Dişeti büyümesi hem süt hem de daimi dişlenme döneminde klinik olarak görülebilir. (Zackin ve Weisberger, 1961; Bozzo

ve ark., 2000). HGF'nin teşhisinde klinik muayene ve aile öyküsü önemli bir yere sahip olmakla beraber bu patolojiyi inceleyen çoğu araştırma bağ dokusunda meydana gelen kolajen üretimi ve fibroblastlar yapısı üzerine odaklanmıştır (Fletcher, 1966; Tipton ve Dabbous, 1998; Baptista, 2002; Coletta ve Graner, 2006). Collan ve ark. (Collan ve ark., 1982) dişeti dokularındaki epitel hücrelerinin immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmiş heterojen yapıda fibroblast hücrelerin patogeneze etkisi olduğunu ve proliferasyon potansiyelinin ve kolajen sentezi kapasitelerinin sağlıklı fibroblastlardan daha fazla olduğunu bildirilmişlerdir. Bu sebeple dokulardaki değişimin fibrotik bir karaktere sahip olduğu HGF, fibrotik mekanizmada rolü olan proteinlerin incelendiği bu araştırmaya dahil edilmiştir.

Literatürde fibrotik içerikli dişeti büyümesi tipleri genellikle sağlıklı dokularla kıyaslanmış ve yapısal değişimler açısından sağlıklı dokudan farklı özellikler gösterdiği belirtilmiştir. Ek olarak dişeti büyümesiyle ilgili yapılan çalışmaların İBDB üzerine odaklanması sebebiyle büyümeyi indükleyen ilaçlar, özellikle dokuda meydana getirdikleri fibrotik değişimler açısından farklı ilaç gruplarına bağlı dişeti büyümeleri birbiriyle karşılaştırılmış ve bu değişimlerin farklı oranlarda görüldüğü bildirilmiştir (Trackman ve Kantarci, 2015). Dişeti büyümelerinin belirli miktarda fibrotik içeriği olduğu ve enflamasyonun bu duruma eşlik ettiği bilinmekle beraber farklı etiyolojiye sahip dişeti büyümelerinin fibrotik içerik bakımından karşılaştırıldığı bir çalışma mevcut değildir. Bizim çalışmamızda enflamasyon, ilaç ve herediter kökenli dişeti büyümelerinde meydana gelen fibrotik değişimlerin farklı olacağı varsayımıyla fibroziste rol alan proteinler açısından hem birbiriyle hem de sistemik sağlıklı bireylerin sağlıklı dişeti dokularıyla karşılaştırmayı amaçladık.

Yoğun fibrotik karakterde olan dişeti büyümelerine, MDP birikiminin eklenmesiyle birlikte enflamasyon da eşlik etmeye başlar. COPT ve iyi plak kontrolü sonucu enflamasyonun çözülmesiyle dişeti büyümesinin klinik bulgularının hafiflediği belirtilmiş ve birçok çalışmada bu tedavinin büyüme lezyonları üzerindeki etkinliği farklı tedavi süreleri ve idame periyotlarında değerlendirilmiştir (Kantarci ve ark., 1999; Keglevich ve ark., 1999; Camargo ve ark., 2001; A. L. Thompson ve ark., 2004; Pundir ve ark., 2014).

İBDB hastalarında dişeti büyümesi şiddetindeki azalma, 8 hafta ila 12 ay arasında değişen geniş zaman aralıklarında değerlendirilmiş (Montebugnoli ve ark., 1996; Kantarci ve ark., 1999; Aimetti ve ark., 2005) ancak literatürde dişeti büyümesi lezyonlarında COPT'nin zamana karşı etkinliği ile ilgili ortak bir fikre varılamamıştır. Bizim çalışmamızda dişeti dokusu örneklerinin alındığı süre olan tedavi sonrası 6 hafta, literatürde bir çok araştırmada COPT sonrası bağ dokusunda iyileşmenin bildirildiği ortalama değerdir (Lang ve ark., 1973; Biagini ve ark., 1988; Ciancio, 1989; Segelnick ve Weinberg, 2006). Dişeti büyümelerinin fibrotik içeriğinin daha etkin bir şekilde değerlendirilmesi amacıyla COPT tedavi sonra 6 haftalık süreçte enflamatuvar komponentin azalması beklenerek periodontal tedavinin 2. fazı olan cerrahi aşamaya geçildi.

Bu çalışmada cerrahi yapılan ve dişeti büyümesi gözlenen bölgeden çıkarılan dokuların klinik özelliklerini yansıtmak amacıyla klinik periodontal parametreler ve dişeti büyümesi indeksleri ölçüldü. PI ölçümlerinin gruplar arasında farklı bulunmaması ve düşük seviyelerde olması, tüm çalışma gruplarında bireylerin ağız hijyenlerinin yüksek seviyede olduğunu gösterdi. Ayrıca Gİ değerlerinin düşük seviyelerde olması ve gruplar arasında fark bulunmaması COPT ile dişeti enflamasyonunun çözüldüğü şeklinde yorumlandı. EDB ve İBDB gruplarındaki SD değerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olması fibrotik özellikteki büyümüş dişetlerine bağlı yalancı ceplerin halen var olduğunu düşündürdü. Bu iki çalışma grubunda SK değerlerinin kontrol grubuna kıyasla yüksek olması enflamasyonun derin ceplerde hala mevcut olduğunu gösterdi. Dişeti enflamasyonunun varlığı konusunda bilgi veren Gİ ve SK değerlerindeki bu farklılık ölçüm esnasında periodontal sondun cebin farklı bölgelerine konumlandırılması sonrası gözlenen kanama kriterinin bölgeler arası değişkenlik göstermesinden kaynaklandı. Gİ ölçümünde periodontal sondun cep duvarı üzerinde gezdirilmesi sonrası oluşan kanama referans alınırken, SK değerinde dişeti oluğu tabanına temas edecek şekilde konumlandırılması sonrası oluşan kanama değerlendirilir. FDBİ değerinin EDB ve İBDB gruplarında HGF ve kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek olması dişeti büyümesinin COPT sonrası hala devam var olduğunu gösterdi. Bu bulgularla paralel şekilde EDB ve İBDB gruplarında MDBİ değerlerinin HGF ve kontrol gruplarına kıyasla anlamlı

derecede yüksek bulunması, dişetin sadece vertikal değil aynı zamanda horizontal olarak da büyüdüğünü ve COPT sonrası hala mevcut olduğunu gösterdi. FDBİ ve MDBİ ölçümlerinin sadece anterior dişlerde yapılması ve HGF grubundaki bireylerde dişeti büyümelerinin daha çok posterior bölgede lokalize olması, şiddetli düzeyde dişeti büyümesi görülmesine rağmen HGF grubunun EDB ve İBDB gruplarına kıyasla dişeti büyümesi indeks ortalamalarının daha düşük olmasını açıklamaktadır. Literatürde İBDB görülen bireylerde COPT uygulanarak periodontal klinik parametrelerdeki değişimler prospektif çalışmalarda incelenmiştir. Birçok araştırmada COPT sonrası ağız hijyen seviyesinin yükselmesine bağlı olarak PI değerlerinin düşük seviyelere ulaştığı bildirilmiştir (Kantarci ve ark., 1999; Pejicic ve ark., 2014; Pundir ve ark., 2014). Ayrıca COPT sonrası İBDB'nin enflamatuvar komponentindeki çözülmenin, başlangıca göre Gİ, SD ve SK değerlerinde azalma ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (Montebugnoli ve ark., 1996; Kantarci ve ark., 1999; Aimetti ve ark., 2005; Pejicic ve ark., 2014; Pundir ve ark., 2014; Nal Acar ve ark., 2015). Dişeti büyümelerinde COPT sonrası FDBİ indeksini değerlendiren mevcut bir çalışma bulunmadığı için bulgularımızı karşılaştırması yapılamadı. İBDB'sinde COPT sonrası diğer bir dişeti büyümesi indeksi olan MDBİ değerlerinden birçok çalışmada azalma yönünde değişim olduğu ve sağlıklı dişeti dokusuna göre fark bulunduğu bildirilmiştir (Pundir ve ark., 2014; Nal Acar ve ark., 2015; Malek ve ark., 2019; Lee ve ark., 2021). Bu çalışmanın bulgularının, ilgili literatür ile paralellik gösterdiği tespit edildi.

Dişeti büyümesi görülen EDB, İBDB ve HGF gruplarında kemik üstü ceplerin eliminasyonu ve dişeti konturun düzeltilmesi amacıyla gingivektomi ve gingivoplasti; kemik içi ceplerin eliminasyonu için modifiye widman flap operasyonları uygulanması sırasında dişeti doku örnekleri elde edildi. Ek olarak kontrol grubunda bulunan bireylerde, protetik ve estetik amaç doğrultusunda kuron boyu uzatma işlemlerinde çıkarılan dişeti dokuları kullanıldı. Literatürde dişeti büyümelerinin histolojik olarak değerlendirildiği çalışmalarda dişeti doku örnekleri gingivektomi (Cetinkaya ve ark., 2014; Roman-Malo ve ark., 2019), flap operasyonu (Cetinkaya ve ark., 2014; Lu ve ark., 2020) ve eksizyonel biyopsi (Nitulescu ve ark., 2012; Anand ve ark., 2018) yöntemleriyle elde edilmiştir.

Kullanılan teknikler araştırmalarda farklı olsa da dişeti büyümesi görülen bölgelerden alınan her bir doku örneğinin epitel ve bağ dokusu içermesi esas alınmıştır. Bizim çalışmamızda cerrahi işlem esnasında elde edilen doku örneklerinde bu kriter göz önünde bulundurulmuştur.

Histoloji, laboratuvar koşullarında mikroskop altında hücrelerin, dokuların ve organların morfolojik özelliklerini değerlendiren ve doku kesitlerinde sağlıklı dokunun mikroanatomisini daha iyi anlayarak hastalık durumunun ayırt edilmesini sağlayan bir bilim dalıdır. Dokulardaki bu değişimin ayırt edilmesiyle klinik anlamda tanı ve teşhis kolaylaşmaktadır. Biyolojik doku örnekleri mikroskopta incelenmeden önce fiksasyon ve koruma, parafin bloklara gömülme, kesit alma ve boyanma gibi bir dizi aşamadan geçerek değerlendirmeye hazır hale getirilir. Fiksasyon ve gömülme aşamalarında dokuların geri dönüşümsüz olarak stabilizasyonu sağlanarak devam eden biyokimyasal süreçlerin durdurulması, böylece dokuda anlık olarak gerçekleşen biyolojik reaksiyonların değerlendirilmesi sağlanır (Ali FR, 2017). Histolojinin diğer tekniklere göre en büyük avantajı olan bu aşamalar dokudaki patolojik reaksiyonlarda rolü olan moleküllerin açığa çıkarılması ve biyobelirteç olarak belirlenmesi için de imkan sağlar. Fikse edilmiş dokuların mikroskop altında incelenebilmesi için farklı boyama teknikleri kullanılır. Histolojik kesitlerde boyaların hidrojen, kovalent ve iyonik bağlarla dokulardaki hücresel komponentlere tutunması amaçlanmakla beraber dokunun farklı bölümlerinde farklı boyama teknikleri kullanılır. Literatürde dişeti dokusu histolojik kesitlerinin incelendiğı çalışmalarda en sık kullanılan boyamalar HE ve Masson Trikromdur. Hematoksilen boyası hücrelerin çekirdeğindeki nükleik asidi mavi, eozin boyası da sitoplazmayı pembe renge boyayarak yapıların daha iyi görülmesini sağlar. Diğer bir boya Masson Trikromda kolajen yapıları mavi ve yeşil renklerde boyar (Larson ve ark., 2011; S. S. Kim ve ark., 2018; Rieppo ve ark., 2019). Bizim çalışmamızda hücrenin yapısal içeriğini göstermesi sebebiyle HE boyaması, fibrotik dokularda artmış kolajen içeriğinin değerlendirilmesi amacıyla ise Masson Trikrom boyaması tercih edildi.

Dokuların histopatolojik olarak kantitatif değerlendirmesinde epitel kalınlaşması, farklı hücre yapılarının gözlenmesi, hyalinizasyon, nekroz oranı, hemoraji, apaptoz, atrofi, bağ

dokusunun artışı, epitelyal hiperkeratoz, enflamatuvar hücre infiltrasyonu, vaskülarizasyon ve konjesyon, kolajen ve akantozis miktarları olmak birçok değişik kriter kullanılmaktadır (Erkanli ve ark., 2013; Jalayer Naderi ve ark., 2015; Madani ve ark., 2017; Yildirim ve ark., 2018; Alkan ve Koroglu, 2021). Histolojik kriterler incelenen doku örneğinin özelliğine göre belirlenmektedir. Bu çalışmada, dişeti dokusunun hem epitel hem de bağ dokusunu içermesi nedeniyle histopatolojik değerlendirmede epitel kalınlaşması, bağ dokusu artışı, enflamatuvar hücre infiltrasyonu, vaskülarizasyon ve konjesyon miktarı kriterleri tercih edildi.

Bu kriterlerden ilki olan epitel kalınlaşması, dişeti büyümesinde bazal tabaka epitel hücrelerinin proliferasyonundaki artışı ile bağ dokusu içerisine uzanan epitel dokusu çıkıntılarının yarattığı akantotik bir durumdur (Draghici ve ark., 2016). Çalışmamızda da dişeti büyümesi görülen grupların tümünde sağlıklı dişeti dokusuna kıyasla epitelin daha kalın olduğu, rete peglerin uzunluğunun ve sayısının arttığı tespit edildi. Literatürde İBDB’nde epitel kalınlığını değerlendiren sınırlı sayıdaki çalışmalarda, sağlıklı dişeti dokusuna göre 5 ila 10 kat daha fazla olduğu, epitel tabakasındaki keratinositlerin mitotik aktivitesinin arttığı ve ilaç kullanımı sonrası epitelin hücrelerin yoğunluğunun sağlıklı dişeti dokusuna kıyasla artış gösterdiği rapor edilmiştir (Ramon ve ark., 1984; Barak ve ark., 1987; Wondimu ve ark., 1995; Nurmenniemi ve ark., 2001). Bununla birlikte, oklüzal kuvvetlerin altında dişeti dokusunda meydana gelen fibrotik değişimlerde ve ortodonti tedavisi gören bireylerde kötü ağız hijyenine bağlı olarak büyümüş dişetinde epitel kalınlaşması olduğu rapor edilmiştir (Gursoy ve ark., 2007; Comanescu ve ark., 2018). Enflamasyon ile ilişkili dişeti büyümesinde epitel tabakasinda keratinositlerin proliferasyonunun ve bağ dokusuna içerisine uzanan rete peglerin uzunluğunun ve miktarının arttığı gösterilmiştir (Carro ve ark., 1997; Nurmenniemi ve ark., 2001; Bulut ve ark., 2006). Bizim çalışmamızda dişeti büyümesi görülen tüm gruplarda epitelin daha kalın ve retepeglerin daha uzun olduğunun tespit edilmesi literatürü destekler niteliktedir.

Diğer bir kriter olan bağ dokusu artışı, neovaskülarizyon, fibroblast popülasyonu ve kolajen fibriller başta olmak üzere ekstraselüler matriks elemanlarının artışı sonucu oluşur (Fiorellini ve ark., 2019). Bu çalışmada farklı etiyolojiye bağlı dişeti büyümesi görülen

dokularda, bağ dokusu miktarı sağlıklı gruba göre artış gösterdiği gözlemlendi. Pamuk ve ark. (Pamuk ve ark., 2013) İBDB’nde hem epitel kalınlığında hem de bağ dokusunda artış olduğunu bildirmiştir. Literatürde fibrotik dişeti büyümesi görülen dokularda ekstraselüler matriks bileşenlerinin üretiminde artış olduğu, yeni kan damarlarının oluşumunu takiben mevcut damarsal yapının yoğunlaştığı ve enflamatuvar hücre infiltrasyonunun arttığı rapor edilmiştir (Nemtoi ve ark., 2019). İBDB üzerine yapılan birçok çalışmada bağ dokusu miktarındaki esas değişimin ekstraselüler matriks içeriğinde yer alan kolajenin sentezinin artmasından ve yıkımının azalmasından kaynaklandığı vurgulanmıştır (Tokgoz ve ark., 2004; Pamuk ve ark., 2013; Pisoschi ve ark., 2014; Kim ve ark., 2015). Ayrıca dihidropiridine bağlı dişeti büyümesinde ilaç kullanımına bağlı olarak kolajenaz aktivitesinin azaldığı ve sonuç olarak bağ dokusunda kolajen birikiminin arttığı bildirilmiştir (Pisoschi ve ark., 2014). EDB görülen dokularda enflamatuvar hücrelerin damar dışına çıkarak bağ dokusuna göç etmesi yoluyla bağ dokusu miktarının arttığı gözlemlenmiştir (Gursoy ve ark., 2007; Goyal ve ark., 2020). Diğer bir dişeti büyümesi tipi olan HGF’de ise bağ dokusunda fibroblast hücre proliferasyonunda artış ve anormal düzeyde kolajen sentezi olduğu belirtilmiştir (Pascu ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda dişeti büyümesi görülen tüm gruplarda bağ dokusu miktarındaki artış görülmesi güncel literatürü desteklemektedir.

Bu çalışmada, farklı etiyolojiler nedeniyle büyüyen dişeti dokularındaki enflamasyon düzeyini incelemek amacıyla enflamatuvar hücre infiltrasyonu faktörü değerlendirildi. EDB’nin araştırıldığı çalışmalarda bağ dokusu içerisinde kolajen lifler arasında lenfositler, makrofajlar, mast ve plazma hücreleri gibi enflamatuvar hücrelerin yoğun bir şekilde görüldüğü rapor edilmiştir (Nitulescu ve ark., 2012; Pascu ve ark., 2015; Goyal ve ark., 2020). Yapılan analiz sonucunda çalışmamızda enflamatuvar hücre infiltrasyonunun EDB grubunda en yüksek düzeyde gözlenmesi, literatür tarafından desteklenen ve beklenen bir bulgudur. Diğer bir dişeti büyümesi tipi olan İBDB’nin kullanılan ilaca bağlı olarak farklı oranlarda fibrotik ve enflamatuvar içerikten oluştuğu rapor edilmiştir (Trackman ve Kantarci, 2015). Mevcut çalışmada COPT’nin dişeti enflamasyonunu azaltması nedeniyle İBDB grubunda EDB grubuna göre daha fibrotik içerik ve daha az

enflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi. HGF grubu diğer dişeti büyümesi görülen gruplarla benzer klinik parametrelere sahip olsa da histolojik olarak en düşük seviyede enflamatuvar hücre infiltrasyonu faktörü tespit edildi. Elde edilen bu bulgu, HGF'nin enflamasyondan daha çok fibrotik karakter göstermesi, yoğun fibroblast aktivitesi, aşırı ekstraselüler matriks sentezi gösteren bir içeriğe sahip olmasıyla literatürle paralellik göstermektedir (Coletta ve Graner, 2006). Dikkat çekici diğer bir bulgu da enflamatuvar hücre infiltrasyonu faktörünün en düşük seviyede tespit edildiği grubun sağlıklı kontrol grubu olmamasıydı. Bu durum, dişeti dokusunun klinik açıdan sağlıklı olmasına rağmen farklı histolojik özelliklere sahip olabileceği görüşünü desteklemektedir. Ayrıca periodontal hastalık sınıflamasının son versiyonunda enflamasyonun klinik belirteci olan SK indeksinin sağlık durumunda dahi sıfır olamayacağı ve %10'dan daha az SK değerlerinin periodontal sağlık durumu olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir (Chapple ve ark., 2018). Dolayısıyla bizim çalışmamızda da sağlık kriteri içerisinde bir miktar SK olabileceği kabul edildi. Nitekim Lang ve Bartold (Lang ve Bartold, 2018) ağız ortamında mikroorganizmaların sürekli varlığı sebebiyle klinik olarak sağlıklı görünse bile dişetinde bir miktar enflamatuvar hücrelerin var olacağını açıklamıştır ve bizim çalışmamız bu görüşü destekler niteliktedir.

Bağ dokusu elemanlarının artışı sonucu kan damarları büzülür ve venöz kan akışı olumsuz etkilenir, böylece kanın dokuda birikmesi olarak tanımlanan konjesyon tablosu gelişir (Draghici ve ark., 2016). Bizim çalışmamızda en yüksek dişeti büyümesi indeksi skorlarına sahip olan İBDB ve EDB gruplarında vaskülarizasyon ve konjesyonun en yüksek düzeyde olduğu tespit edildi. Bu artış daha yoğun olarak bağ dokusunun derin tabakalarında olmakla birlikte, epitel-bağ dokusu birleşiminde ve bağ dokusunun epitele yakın bölgelerinde gözlemlendi. İBDB'nde vaskülarizasyonda artış ve yüksek TGF- β seviyesinin yeni damar oluşumlarını tetiklediği bilgisi çalışmamızın bulgularını desteklemektedir (Uzel ve ark., 2001; Alptekin ve ark., 2012; Kantarci ve ark., 2019). EDB grubunda vaskülarizasyonun ve konjesyonun fazla olması beklenen bir sonuçtur ve literatürde dişeti enflamasyonu görülen dokularda vasküler yapıların sayıca artışını bildiren birçok çalışma ile aynı paralelliktedir (Zoellner ve ark., 2002; Nitulescu ve ark.,

2012; Pascu ve ark., 2015). HGF grubunda vaskülarizasyon ve konjesyonun sağlıklı kontrol grubuna yakın derecede olması, doku özelliğinin daha çok fibrotik karakterde olması ve az damarsal yapı içermesinden kaynaklanabilir (Cunha ve ark., 2020).

Bu çalışmada değerlendirilen 4 ayrı histopatoloji kriterlerinin toplamı olarak ifade edilen toplam histopatoloji skoru, dokuda meydana gelen biyolojik değişimlerin tümünü bir arada değerlendirir (Gibson-Corley ve ark., 2013). Literatürde farklı dişeti büyümesi tiplerinin toplam histopatoloji skorunu ifade eden bir çalışma bulunmadığından, doğrudan karşılaştırma yapmak mümkün olamadı. İBDB ve EDB gruplarının toplam histopatoloji skorunun kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu görüldü. HGF grubunda toplam histopatoloji skoru daha çok epitel ve bağ dokusundaki değişimlerle sınırlansa da enflamatuvar ve vaskülarizasyon açısından kontrol grubuyla benzerlik gösterdi. İBDB ve EDB'nin toplam histopatoloji skorunun HGF'ye göre daha yüksek olması enflamatuvar infiltrat ve vaskülarizasyon açısından farklı özelliklere sahip olmasından kaynaklandığı düşünüldü.

Dişeti büyümelerinin patogenetik süreçlerinde rol alan biyobelirteçler bu patolojinin oluşum mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi açısından önemlidir. Dişeti büyümesinde rolü olan birçok proteinin doku içerisinde varlığını, lokalizasyonunu, dağılımını, ekspresyon ve degradasyon değişikliklerini tespit etmek amacıyla immün boyama teknikleri kullanılmıştır. İmmünohistokimyasal teknik hücre kültüründe, taze dondurulmuş veya fikse edilerek parafine gömülmüş doku örneklerinden elde edilen kesitlerde proteinler için yüksek afiniteye sahip spesifik antikorlar kullanarak antijenik proteinin varlığını tespit etmede sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Hofman ve Taylor, 2013; Maity ve ark., 2013). Dişeti büyümesinin patogenezinde rolü olabilecek proteinlerin varlığını ve lokalizasyonunu tespit eden bu teknik, prosedür uygulama maliyetinin nispeten ucuz olması, patolojiden etkilenen dokuların boyanma göstererek görsel olarak tespit edilebilmesi ve özellikle parafine gömülmüş kesitlerin saklanma sürelerinin uzun olması gibi avantajları sebebiyle bu çalışmada tercih edildi.

Dokuda meydana fibrozis, ekstraselüler matriks proteinlerinin aşırı ve düzensiz birikimi ile karakterize olan birçok hastalığın klinik ve histolojik bulgusudur. Kronik enfeksiyon, akut ve tekrarlayan doku yaralanması matriksin doğal yapısını koruyan fibrojenik yanıtı uyarır (Jun ve Lau, 2018). Fibrotik patogenezin uyarıldığı sinyalizasyonun ana elemanı olan TGF- β süper ailesi fibrötik lezyonlarda biyoaktif göreve sahip olduğu, ekspresyonunun arttığı ve patogenetik sürecin yönlendirilmesinde rolü olduğu kalp, karaciğer, böbrek ve akciğer gibi hayati organlarda yapılan araştırmalarda bildirilmiştir (Sato ve ark., 2003; Bujak ve ark., 2007; Meng ve ark., 2010; Frangogiannis, 2020; Clynick ve ark., 2022). Dişeti dokularında da fibrotik değişikliklerin yer aldığı EDB, İBDB ve HGF vakalarında TGF- β sinyalizasyonu yolunun uyarıldığı ve ekspresyonunda artış görüldüğü bildirilmiştir (Romanos ve ark., 1992; Tipton ve Dabbous, 1998; Wright ve ark., 2004; Zhou ve ark., 2009). Ek olarak, yapılan fenitoin, nifedipin ve siklosporin-A kullanımına bağlı dişeti büyümelerinde bu büyüme faktörünün üretiminin ve uyarılma mekanizmalarının aktif rol aldığı rapor edilmiştir (Uzel ve ark., 2001; Kuru ve ark., 2004; Kose ve ark., 2020). Hasarlı dokunun onarım sürecinde TGF- β 1 ailesinin ekstraselüler matriks sentezini yapan öncül hücrelerden miyofibroblast hücrelerinin farklılaşarak çoğalmasına, hücre göçüne ve SMAD proteinleri aracılığıyla hücre çekirdeğinde gen transkripsiyonunu uyararak epitel ve fibroblast hücrelerinin proliferasyonuna neden olduğu bilinmektedir (Meng ve ark., 2016; Jun ve Lau, 2018). Mevcut çalışmada farklı etiyolojiye sahip fibrotik dişeti büyümesi görülen dokularda TGF- β 1'in lokalizasyonu ve boyanma derecesi immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Tüm çalışma gruplarında *stratum corneum* hariç tüm epitel tabakalarında, bağ dokusunda damar endotel hücrelerinde ve enflamatuvar hücrelerde TGF- β 1 pozitif immün boyanma gösterdiği görüldü. TGF- β 1; fibrotik dokularda bulunan miyofibroblast, makrofaj, epitel hücreleri, endotel hücreleri ve perisitler gibi hücreleri hedef alarak uyarılmalarını sağlaması bu hücrelerin bulunduğu bölgelerdeki görülen pozitif immünreaksiyonu destekler niteliktedir (K. K. Kim ve ark., 2018). Yapılan çalışmalar, epitel-mezenşim geçişi yoluyla epitel tabakasındaki hücrelerin miyofibroblastlara farklılaşması ve keratinositlerin göçünü uyarması gibi görevleri olan TGF- β 1'in bu tabakada varlığını pozitif boyanmayla doğrulamaktadır (Saito ve ark., 1996; Zeisberg ve ark., 2007; Nitulescu ve ark., 2012; Wu

ve ark., 2013). Dişeti epiteli haricinde endotelial-mezenşim geçişi yoluyla bu bölgedeki hücrelerin miyofibroblastlara farklılaşmasını uyaran TGF- β 1'in perivasküler alandaki varlığı damar endotelinde immünreaksiyon göstermesiyle doğrulandı (Uzel ve ark., 2001; Frangogiannis, 2020). Ayrıca dişeti dokularında enflamatuvar süreçlerde fibroblast ve keratinositler tarafından üretilen TGF- β 1, bağ dokusu ve epitelde proenflamatuvar bir etki oluşturarak enflamatuvar hücrelerin uyarılmasını ve bu hücrelerde üretilen proenflamatuvar sitokinlerin salınımının yönlendirdiği bilgisi çalışmamızda bağ dokusunda pozitif boyanan enflamatuvar hücrelerin bulunmasıyla uyumluluk gösterdi (Kaigler ve ark., 2006; Nitulescu ve ark., 2012; Frangogiannis, 2020). Çalışma yer alan dişeti büyümesi görülen grupların haricinde sağlıklı kontrol grubunda da TGF- β 1'in immün pozitif boyanma göstermesi, kontrol grubunda TGF- β 1 sinyalizasyonunda etkisi olan enflamatuvar hücre infiltrasyonunun beklenenin aksine daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünüldü. Tüm çalışma gruplarının TGF- β 1 immün pozitif boyanma derecesindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı olmasada görsel olarak epitel ve bağ dokusunun kalınlaştığı tespit edilen dişeti büyümesi gruplarında sağlıklı dokuya göre artış olduğu belirlendi. Pisoschi ve ark. (Pisoschi ve ark., 2014) DHP'ye bağlı dişeti büyümelerinde TGF- β 1 immünreaksiyon derecesini boyanmanın olup olmamasına göre kategorize etmişlerdir. EDB görülen bireylerde TGF- β 1 pozitif immünreaksiyon derecesini değerlendiren Nitulescu ve ark. (Nitulescu ve ark., 2012) boyanmayı derecelerine göre 5 farklı kategoride kalitatif olarak görsel değerlendirme yapmışlardır. Literatürde farklı etiyolojiye sahip dişeti büyümelerini sağlık dişeti dokularıyla kıyaslayan ve histolojik verileri hem görsel olarak kalitatif hem de dijital olarak kantitatif değerlendirme yapan çalışma bulunmamaktadır ve doğrudan karşılaştırma yapılamadı.

Dokularda meydana gelen fibrotik süreçlerde TGF- β sinyalizasyonu yolu hücrede SMAD proteinleri aracılığıyla etki göstererek hücre farklılaşması, hücre proliferasyonu ve hücre çekirdeğinde gen ekspresyonunun yönlendirilmesini sağlar (Derynck ve Zhang, 2003). SMAD proteinleri ekstraselüler matrikste bulunan TGF- β 1'in aksine hücre içerisinde yer alır ve TGF- β 1 tarafından uyarılan hücrelerde gözlemlenir (Massague ve ark., 2005). Bu araştırmada aktivasyon görevi olan R-SMAD proteinlerinden SMAD 2 ve inhibisyon

görevi olan I-SMAD proteinlerinden SMAD 7 proteinlerinin dişeti dokusu içerisinde lokalizasyonu ve immün boyanma dereceleri değerlendirildi. SMAD 2 ve SMAD 7 proteinlerinin her ikisi de epitel hücrelerinde, bağ dokusu içerisinde enflamatuvar hücrelerde ve kan damarı endotelinde pozitif immün boyanma gösterdi. Fibroblast kültürlerinde SMAD proteinlerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (Sobral ve ark., 2012; Marconi ve ark., 2021). Sobral ve ark. (Sobral ve ark., 2012) TGF- β 1 ile muamele edilen dişeti fibroblastlarında SMAD 2 ve 7 ekspresyonunu ve hücre çekirdeğindeki lokalizasyonunu immüno Floresan yöntemi ile göstermiş, yüksek miktarda eksprese olan SMAD 7'nin SMAD 2 aktivitesini baskıladığını rapor etmiştir. Marconi ve ark. (Marconi ve ark., 2021) çalışmalarında TGF- β 1 ile muamele edilen insan dişeti fibroblastlarında SMAD 2 ve 3 ekspresyonunun indüklendiğini immüno Floresan yöntemi kullanarak göstermiştir. Hücre kültürü çalışmalarının yanında, dişeti doku örneklerinde immün boyama yöntemleriyle SMAD proteinlerini inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır. Kim ve ark. (Kim ve ark., 2013) nifedipine bağlı dişeti büyümesi görülen hastalar ile sağlıklı bireylerin dişeti dokularında immünohistokimya yöntemini kullanarak SMAD 2 ve SMAD 3 proteinlerinin hücre çekirdeğinde yer aldığını ve böylece nifedipinin TGF- β sinyalizasyonunda etkili olabileceğini rapor etmiştir. Ek olarak, aynı grubun 2015 yılında yaptıkları bir başka araştırmada immünohistokimya yöntemini kullanarak nifedipine ve fenitoine bağlı dişeti büyümesi görülen hastalardan elde edilen dişeti dokusu örneklerinde SMAD 2 ve 3 proteinlerinin hücre çekirdeğindeki varlığı tespit edilmiştir (Kim ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda da, SMAD 2 ve SMAD 7 proteinleri immünohistokimyasal yöntem ile farklı etiyolojiye sahip dişeti büyümesi görülen hastalar ve sağlıklı bireylerin dişeti dokularında hücre içinde, çekirdekte pozitif boyanma görüldü. Ancak çalışmamızda 4 grupta SMAD-2 ve SMAD-7 ekspresyonları farklılık göstermedi. Bu proteinlerin farklı etiyolojilere sahip dişeti büyümesinde değerlendirildiği bir çalışma literatürde mevcut olmadığından bulgularımızı doğrudan karşılaştırmak mümkün olmadı.

Sonuç olarak,

- Dişeti büyümelerinin klinik bulgularının değerlendirilmesinde klinik parametrelerin ve çeşitli indekslerin kullanılması hastalığın teşhisi konusunda faydalı olsa da patogenezi ve dokudaki yapısal değişimler hakkında yeterli bilgi verememektedir.
- Farklı etiyolojiye sahip dişeti büyümesi tiplerinde COPT uygulamalarını takiben histolojik olarak enflamatuvar hücrelerin tespit edilmesi, periodontal sağlık durumunda dahi bir miktar enflamasyonun halen mevcut olacağı ve klinik olarak sondalamada kanamanın sıfır olamayacağı bilgisini desteklemektedir.
- Dişeti büyümesinde görülen boyutsal artışın epitel tabakasındaki keratinositlerin proliferasyonu ve bağ dokusundaki enflamatuvar hücre infiltrasyonu, neovaskülarizasyon ve kolajen matriks sentezinden kaynaklanabileceği düşünüldü.
- Çalışmamızın sınırları dahilinde, fibrozis mekanizmasının ana sinyalizasyon yolu elemanı olan TGF- β 1'in ve yolakta rol alan SMAD 2 ve SMAD 7 proteinlerinin epitel ve bağ dokusunda immün reaksiyon vermesine dayanarak dişeti büyümesi patogenezinde biyobelirteç olarak rol oynadıkları ileri sürülebilir. Ancak bir neden-sonuç ilişkisinin kurulabilmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. KAYNAKLAR

Agrawal AA. Gingival enlargements: differential diagnosis and review of literature. *World J Clin Cases*. 2015;3(9):779-88.

Aimetti M, Romano F, Debernardi C. Effectiveness of periodontal therapy on the severity of cyclosporin A-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol*. 2005;32(8):846-50.

Alkan B, Koroglu P. Effects of amoxicillin on gingival biopsies and oral smears: A cross-sectional study. *Niger J Clin Pract*. 2021;24(2):233-9.

Alptekin NO, Ustun K, Yaprak E, Avunduk MC, Ataoglu T. Immunohistochemical analysis of CD45RO+ T cells and vascular endothelial growth factor expression in cyclosporin A-induced rat gingival tissue. *J Periodontol*. 2012;83(2):248-55.

Anand AJ, Gopalakrishnan S, Karthikeyan R, Mishra D, Mohapatra S. Immunohistochemical analysis of the role connective tissue growth factor in drug-induced gingival overgrowth in response to phenytoin, cyclosporine, and nifedipine. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2018;8(1):12-20.

Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999;4(1):1-6.

Ball DE, McLaughlin WS, Seymour RA, Kamali F. (). Plasma and saliva concentrations of phenytoin and 5-(4-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin in relation to the incidence and severity of phenytoin-induced gingival overgrowth in epileptic patients. *J Periodontol*. 1996;67(6):597-602.

Baptista IP. Hereditary gingival fibromatosis: a case report. *J Clin Periodontol*. 2002;29(9):871-4.

Barak S, Engelberg IS, Hiss J. Gingival hyperplasia caused by nifedipine. Histopathologic findings. *J Periodontol*. 1987;58(9):639-42.

Barclay S, Thomason JM, Idle JR, Seymour RA. The incidence and severity of nifedipine-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol*. 1992;19(5):311-4.

Beaumont J, Chesterman J, Kellett M, Durey K. Gingival overgrowth:Part 1: aetiology and clinical diagnosis. *Br Dent J.* 2017;222(2):85-91.

Biagini G, Checchi L, Miccoli MC, Vasi V, Castaldini C. Root curettage and gingival repair in periodontitis. *J Periodontol.* 1988;59(2):124-9.

Bozzo L, Machado MA, de Almeida OP, Lopes MA, Coletta RD. Hereditary gingival fibromatosis: report of three cases. *J Clin Pediatr Dent.* 2000;25(1):41-6.

Buduneli N, Kutukculer N, Aksu G, Atilla G. Evaluation of transforming growth factor-beta 1 level in crevicular fluid of cyclosporin A-treated patients. *J Periodontol.* 2001;72(4):526-31.

Bujak M, Ren G, Kweon HJ, Dobaczewski M, Reddy A, Taffet G, Frangogiannis NG. Essential role of Smad3 in infarct healing and in the pathogenesis of cardiac remodeling. *Circulation.* 2007;116(19):2127-38.

Bulut S, Uslu H, Ozdemir BH, Bulut OE. Analysis of proliferative activity in oral gingival epithelium in immunosuppressive medication induced gingival overgrowth. *Head Face Med.* 2006;2:13.

Burgy O, Konigshoff M. The WNT signaling pathways in wound healing and fibrosis. *Matrix Biol.* 2018;68-69.

Camargo PM, Melnick PR, Pirih FQ, Lagos R, Takei HH. Treatment of drug-induced gingival enlargement: aesthetic and functional considerations. *Periodontol* 2000. 2001;27:131-8.

Carranza FA, Hogan EL. Gingival enlargement. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, eds. *Carranza's Clinical Periodontology*. 12th ed. Missouri: Elsevier; 2015, p:232-3.

Carro OM, Evans SA, Leone CW. Effect of inflammation on the proliferation of human gingival epithelial cells in vitro. *J Periodontol.*1997;68(11):1070-5.

Casetta I, Granieri E, Desidera M, Monetti VC, Tola MR, Paolino E, Calura G. Phenytoin-induced gingival overgrowth: a community-based cross-sectional study in Ferrara, Italy. *Neuroepidemiology*. 1997;16(6):296-303.

Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Tonetti MS. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - introduction and key changes from the 1999 classification. *J Periodontol*. 2018;89(1):1-8.

Catterall WA, Perez-Reyes E, Snutch TP, Striessnig J. International union of pharmacology. XLVIII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels. *Pharmacol Rev*. 2005;57(4):411-25.

Cebeci I, Kantarci A, Firatli E, Aygun S, Tanyeri H, Aydin AE, Tuncer O. Evaluation of the frequency of HLA determinants in patients with gingival overgrowth induced by cyclosporine-A. *J Clin Periodontol*. 1996;23(8):737-42.

Cetinkaya BO, Pamuk F, Keles GC, Ayas B, Ozfidan GK, Kayisli U, Horton H. The role of phosphatase and tensin homolog in drug-induced gingival overgrowth. *J Periodontal Res*. 2014;49(3):307-13.

Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, Yoshie H. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: consensus report of workgroup 1 of the 2017 world workshop on the classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *J Periodontol*. 2018;89(1):74-84.

Chen JT, Wang CY, Chen MH. Curcumin inhibits TGF-beta1-induced connective tissue growth factor expression through the interruption of Smad2 signaling in human gingival fibroblasts. *J Formos Med Assoc*. 2018;117(12):1115-23.

Chen L, Yang T, Lu DW, Zhao H, Feng YL, Chen H, Zhao YY. Central role of dysregulation of TGF-beta/Smad in CKD progression and potential targets of its treatment. *Biomed Pharmacother*. 2018;101:670-81.

Ciancio SG. Non-surgical periodontal treatment. In: *Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics*. Chicago: American Academy of Periodontology, 1989.

Clynick B, Corte TJ, Jo HE, Stewart I, Glaspole IN, Grainge C, Moodley Y. Biomarker signatures for progressive idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2022;59(3):2101181

Coletta RD, Graner E. Hereditary gingival fibromatosis: a systematic review. *J Periodontol*. 2006;77(5):753-64.

Collan Y, Ranta H, Vartio T, Perheentupa J, Raeste AM. Histochemical and biochemical study of hereditary fibrous hyperplasia of the gingiva. *Scand J Dent Res*. 1982;90(1):20-8.

Comanescu TM, Plesea IE, Dragomir LP, Popescu MR, Plesea RM, Uscatu CD, Caramizaru M. Morphological changes of gums in occlusal trauma. *Rom J Morphol Embryol*. 2018;59(3):787-802.

Craitoiu S, Bobic AG, Manolea HO, Mehedinti MC, Pascu RM, Florescu AM, Iacov-Craitoiu MM. Immunohistochemical study of experimentally drug-induced gingival overgrowth. *Rom J Morphol Embryol*. 2019;60(1):95-102.

Cunha JLS, Ramos M, Regis DM, Sanchez-Romero C, de Andrade ME, Bezerra BT, de Albuquerque-Junior RLC. Generalized hereditary gingival fibromatosis in a child: clinical, histopathological and therapeutic aspects. *Autops Case Rep*. 2020;10(1):2020140.

Daley TD, Wysocki GP, Mamandras AH. Orthodontic therapy in the patient treated with cyclosporine. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1991;100(6):537-41.

Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature*. 2003;425(6958):577-84.

Dhadse PV, Yeltiwar RK, Pandilwar PK, Gosavi SR. Hereditary gingival fibromatosis. *J Indian Soc Periodontol*. 2012;16(4):606-9.

Dongari-Bagtzoglou A; Research, Science and Therapy Committee, American Academy of Periodontology. Drug-associated gingival enlargement. *J Periodontol*. 2004;75(10):1424-31.

Dongari A, McDonnell HT, Langlais RP. Drug-induced gingival overgrowth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993;76(4):543-8.

Doufexi A, Mina M, Ioannidou E. Gingival overgrowth in children: epidemiology, pathogenesis, and complications. A literature review. *J Periodontol.* 2005;76(1):3-10.

Dougall HT, McLay J. A comparative review of the adverse effects of calcium antagonists. *Drug Saf.* 1996;15(2):91-106.

Draghici EC, CraiToiu S, Mercu TV, Scrieciu M, Popescu SM, Diaconu OA, CraiToiu, MM. Local cause of gingival overgrowth. Clinical and histological study. *Rom J Morphol Embryol.* 2016;57(2):427-35.

Eftekharian S, Seifi S, Satari FD, Moghaddamnia AA, Feizi F, Kazemi S, Gholinia H. Curcumin effect on the prevention of gingival overgrowth following phenytoin consumption in rats:a clinicohistological and immunohistochemical study. *J Contemp Dent Pract.* 2019;20(10):1146-50.

Ellis JS, Seymour RA, Monkman S, Idle JR. (Disposition of nifedipine in plasma and gingival crevicular fluid in relation to drug-induced gingival overgrowth. *J Periodontal Res.* 1993;28(5):373-8.

Ellis JS, Seymour RA, Robertson P, Butler TJ, Thomason JM. Photographic scoring of gingival overgrowth. *J Clin Periodontol.* 2001;28(1):81-5.

Ellis JS, Seymour RA, Steele JG, Robertson P, Butler TJ, Thomason JM. Prevalence of gingival overgrowth induced by calcium channel blockers: a community-based study. *J Periodontol.* 1999;70(1):63-7.

Erkanli K, Erkanli Senturk G, Aydin U, Arbak S, Ercan F, Tuncdemir M, Bakir I.. Oxytocin protects rat skeletal muscle against ischemia/reperfusion injury. *Ann Vasc Surg.* 2013;27(5):662-70.

Fardal O, Lygre H. Management of periodontal disease in patients using calcium channel blockers- gingival overgrowth, prescribed medications, treatment responses and added treatment costs. *J Clin Periodontol.* 2015;42(7):640-6.

Fattore L, Stablein M, Bredfeldt G, Semla T, Moran M, Doherty-Greenberg JM. Gingival hyperplasia: a side effect of nifedipine and diltiazem. *Spec Care Dentist*. 1991;11(3):107-9.

Fiorellini JP, Kim D, Chang YU. Anatomy, Structure, and Function of the Periodontium. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, eds. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. 13th ed. California: Elsevier; 2019, p:19-287.

Fiorellini JP, Kim D. Gingival Inflammation. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, eds. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. 12th ed. Missouri: Elsevier Saunders; 2015, p: 219-23.

Fleckenstein A, Tritthart H, Flackenstein B, Herbst A, Grun G. A new group of competitive divalent Ca-antagonists (iproveratril, D 600, prenylamine) with potent inhibitory effects on electromechanical coupling in mammalian myocardium. *Pflugers Arch*. 1969;307(2):25.

Fletcher JP. Gingival abnormalities of genetic origin: a preliminary communication with special reference to hereditary generalized gingival fibromatosis. *J Dent Res*. 1966:45.

Frangogiannis N. Transforming growth factor-beta in tissue fibrosis. *J Exp Med*. 2020;217(3):20190103.

Ganesh PR. Immunoexpression of interleukin-6 in drug-induced gingival overgrowth patients. *Contemp Clin Dent*. 2016;7(2):140-5.

Gawron K, Lazarz-Bartyzel K, Potempa J, Chomyszyn-Gajewska M. Gingival fibromatosis: clinical, molecular and therapeutic issues. *Orphanet J Rare Dis*. 2016;11:9.

Gibson-Corley KN, Olivier AK, Meyerholz DK. Principles for valid histopathologic scoring in research. *Vet Pathol*. 2013; 50(6):1007-15.

Gopal S, Joseph R, Santhosh VC, Kumar VV, Joseph S, Shete AR. Prevalence of gingival overgrowth induced by antihypertensive drugs: a hospital-based study. *J Indian Soc Periodontol*. 2015;19(3):308-11.

Goyal A, Rathore M, Singh SK, Nada R. Generalised gingival enlargement as a sole manifestation of IgG4-related disease. *BMJ Case Rep.* 2020;13(7):236338.

Goddard WH. Case of Hypertrophy of the Gums, in the Practice of Professor Gross. *Dent Regist.* 1856;9(3):276-82.

Guncu GN, Caglayan F, Dincel A, Bozkurt A, Ozmen S, Karabulut E. Clinical and pharmacological variables as a risk factor for nifedipine-induced gingival overgrowth. *Aust Dent J.* 2007;52(4):295-9.

Guncu GN, Caglayan F, Dincel A, Bozkurt A, Saygi S, Karabulut E. Plasma and gingival crevicular fluid phenytoin concentrations as risk factors for gingival overgrowth. *J Periodontol.* 2006;77(12):2005-2010.

Ali FR, Orchard GE, Mallipeddi R. Hematoxylin in History-The Heritage of Histology. *JAMA Dermatol.* 2017;153(3):328.

Gurkan A, Emingil G, Oktem G, Selvi N, Afacan B, Tunc I, Atilla G. Immunohistochemical analysis of inducible and endothelial forms of nitric oxide synthase in cyclosporin A-induced gingival overgrowth. *J Periodontol.* 2009;80(10):1638-47.

Gursoy UK, Sokucu O, Uitto VJ, Aydin A, Demirer S, Toker H, Sayal A. The role of nickel accumulation and epithelial cell proliferation in orthodontic treatment-induced gingival overgrowth. *Eur J Orthod.* 2007;29(6):555-8.

Hagiwara S, Ozawa S, Sand O. Voltage clamp analysis of two inward current mechanisms in the egg cell membrane of a starfish. *J Gen Physiol.* 1975;65(5):617-44.

Hallmon WW, Rossmann JA. The role of drugs in the pathogenesis of gingival overgrowth. A collective review of current concepts. *Periodontol 2000.* 1999;21:176-96.

Harel-Raviv M, Eckler M, Lalani K, Raviv E, Gornitsky M. Nifedipine-induced gingival hyperplasia. A comprehensive review and analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79(6):715-22.

Hassell TM, Gilbert GH. Phenytoin sensitivity of fibroblasts as the basis for susceptibility to gingival enlargement. *Am J Pathol.* 1983;112(2):218-23.

Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Surgical and nonsurgical periodontal therapy. Learned and unlearned concepts. *Periodontol* 2000. 2013;62(1):218-31.

Henderson NC, Rieder F, Wynn TA. Fibrosis: from mechanisms to medicines. *Nature.* 2020;587(7835):555-66.

Hirani N, MacKinnon AC, Nicol L, Ford P, Schambye H, Pedersen A, Maher TM. Target inhibition of galectin-3 by inhaled TD139 in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J.* 2021;57(5):2002559.

Hofman FM, Taylor CR. Immunohistochemistry. *Curr Protoc Immunol.* 2013;103:1-26.

Holmstrup P, Plemons J, Meyle J. Non-plaque-induced gingival diseases. *J Clin Periodontol.* 2018;45(20):28-43.

Hou X, Summer R, Chen Z, Tian Y, Ma J, Cui J, Liu, H. Lipid uptake by alveolar macrophages drives fibrotic responses to silica dust. *Sci Rep.* 2019;9(1):399.

Howell M, Itoh F, Pierreux CE, Valgeirsdottir S, Itoh S, Dijke P, Hill CS. Xenopus Smad4beta is the co-Smad component of developmentally regulated transcription factor complexes responsible for induction of early mesodermal genes. *Dev Biol.* 1999;214(2):354-69.

Jalayer Naderi N, Semyari H, Elahinia Z. The impact of smoking on gingiva: a histopathological study. *Iran J Pathol.* 2015;10(3):214-20.

James JA, Irwin CR, Linden GJ. Gingival fibroblast response to cyclosporin A and transforming growth factor beta 1. *J Periodontal Res.* 1998;33(1):40-8.

Jorgensen MG. Prevalence of amlodipine-related gingival hyperplasia. *J Periodontol.* 1997;68(7):676-8.

Jun JI, Lau LF. Resolution of organ fibrosis. *J Clin Invest.* 2018;128(1):97-107.

Kaigler D, Cirelli JA, Giannobile WV. Growth factor delivery for oral and periodontal tissue engineering. *Expert Opin Drug Deliv*. 2006;3(5):647-62.

Kanno CM, Oliveira JA, Ervolino E, Soubhia AMP. Effects of cyclosporin, nifedipine and phenytoin on gingival myofibroblast transdifferentiation in monkeys. *J Appl Oral Sci*. 2018;27:20180135.

Kantarci A, Carranza F, Hogan E. Gingival Enlargement. In: Newman M, Takei H, Klokkevold P, Carranza F, eds. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. 13th ed. Philadelphia: Elsevier; 2019, p:256-67.

Kantarci A, Cebeci I, Tuncer O, Carin M, Firatli E. Clinical effects of periodontal therapy on the severity of cyclosporin A-induced gingival hyperplasia. *J Periodontol*. 1999;70(6):587-93.

Kato T, Okahashi N, Kawai S, Kato T, Inaba H, Morisaki I, Amano A. Impaired degradation of matrix collagen in human gingival fibroblasts by the antiepileptic drug phenytoin. *J Periodontol*. 2005;76(6):941-50.

Keglevich T, Benedek E, Gera I. Clinical experience with the treatment of gingival hyperplasia induced by calcium channel blocking agents. *Fogorv Sz*. 1999;92(12):363-72.

Khot S, Auti PB, Khedkar SA. Diversified synthetic pathway of 1, 4-dihydropyridines: a class of pharmacologically important molecules. *Mini Rev Med Chem*. 2021;21(2):135-49.

Kim KK, Sheppard D, Chapman HA. TGF-beta1 Signaling and Tissue Fibrosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018;10(4):022293

Kim SS, Jackson-Boeters L, Darling MR, Rieder MJ, Hamilton DW. Nifedipine induces periostin expression in gingival fibroblasts through TGF-beta. *J Dent Res*. 2013;92(11):1022-8.

Kim SS, Michelsons S, Creber K, Rieder MJ, Hamilton DW. (Nifedipine and phenytoin induce matrix synthesis, but not proliferation, in intact human gingival connective tissue ex vivo. *J Cell Commun Signal*. 2015;9(4):361-75.

Kim SS, Nikoloudaki G, Darling M, Rieder MJ, Hamilton DW. Phenytoin activates Smad3 phosphorylation and periostin expression in drug-induced gingival enlargement. *Histol Histopathol*. 2018;33(12):1287-98.

Kimball O. The treatment of epilepsy with sodium diphenyl hydantoinate. *J Am Med Assoc*. 1939;112(13):1244-5.

Kisseleva T, Brenner D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18(3):151-166.

Kose KN, Yilmaz S, Noyan U, Kuru B, Yildirim HS, Agrali OB, Kuru, L. The gingival crevicular fluid levels of growth factors in patients with amlodipine-induced gingival overgrowth:A pilot study. *Niger J Clin Pract*. 2020;23(4):561-7.

Krishna S, Maduzia LL, Padgett RW. Specificity of TGFbeta signaling is conferred by distinct type I receptors and their associated SMAD proteins in *Caenorhabditis elegans*. *Development*. 1999;126(2):251-60.

Kurgan S, Kantarci A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. *Periodontol* 2000. 2018;76(1):51-67.

Kuru L, Yilmaz S, Kuru B, Kose KN, Noyan U. Expression of growth factors in the gingival crevice fluid of patients with phenytoin-induced gingival enlargement. *Arch Oral Biol*. 2004;49(11),945-50.

Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Periodontol*. 2018;89(1):9-16.

Lang NP, Cumming BR, Loe H. Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gingival health. *J Periodontol*. 1973;44(7):396-405.

Larson K, Ho HH, Anumolu PL, Chen TM. Hematoxylin and eosin tissue stain in mohs micrographic surgery: a review. *Dermatol Surg*. 2011;37(8):1089-99.

Lederman D, Lumerman H, Reuben S, Freedman PD. Gingival hyperplasia associated with nifedipine therapy. Report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1984;57(6):620-2.

Lee HC, Wu CN, Yuan K. Self-correction of pathologic tooth migration after nonsurgical periodontal treatment in a metabolic syndrome patient with severe periodontitis and drug-influenced gingival enlargement. *J Indian Soc Periodontol.* 2021;25(4):350-354.

Liu F, Hata A, Baker JC, Doody J, Carcamo J, Harland RM, Massague J. A human Mad protein acting as a BMP-regulated transcriptional activator. *Nature.* 1996;381(6583):620-3.

Livada R, Shiloah J. Calcium channel blocker-induced gingival enlargement. *J Hum Hypertens.* 2014;28(1):10-14.

Loe H, Silness J. Periodontal Disease in Pregnancy. I. Prevalence and Severity. *Acta Odontol Scand.* 1963;21:533-51.

Lu SL, Chang JH, Huang CF, Chen LS. Therapeutic potential of proteasome inhibitors for dihydropyridine-induced gingival overgrowth. *Oral Dis.* 2020;26(3):630-6.

Madani ZS, Azarakhsh S, Shakib PA, Karimi M. Histopathological changes in dental pulp of rats following radiotherapy. *Dent Res J (Isfahan).* 2017;14(1):19-24.

Maity B, Sheff D, Fisher RA. Immunostaining: detection of signaling protein location in tissues, cells and subcellular compartments. *Methods Cell Biol.* 2013;113:81-105.

Majola MP, McFadyen ML, Connolly C, Nair YP, Govender M, Laher MH. Factors influencing phenytoin-induced gingival enlargement. *J Clin Periodontol.* 2000;27(7), 506-12.

Malek R, El Houari B, Kissa J. Periodontal management of cyclosporin a-induced gingival overgrowth: a nonsurgical approach. *Case Rep Dent.* 2019;8609547.

Marconi GD, Fonticoli L, Rajan TS, Lanuti P, Della Rocca Y, Pierdomenico SD, Diomede F. Transforming growth factor-beta1 and human gingival fibroblast-to-myofibroblast differentiation: molecular and morphological modifications. *Front Physiol.* 2021;12:676512.

Margiotta V, Pizzo I, Pizzo G, Barbaro A. Cyclosporin- and nifedipine-induced gingival overgrowth in renal transplant patients: correlations with periodontal and pharmacological parameters, and HLA-antigens. *J Oral Pathol Med.* 1996;25(3):128-34.

Marshall RI, Bartold PM. A clinical review of drug-induced gingival overgrowths. *Aust Dent J.* 1999;44(4):219-32.

Massague J, Seoane J, Wotton D. Smad transcription factors. *Genes Dev.* 2005;19(23):2783-2810.

Meng XM, Huang XR, Chung AC, Qin W, Shao X, Igarashi P, Lan HY. Smad2 protects against TGF-beta/Smad3-mediated renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(9):1477-87.

Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF-beta: the master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2016;12(6):325-38.

Merritt H, Putnam T. Sodium diphenylhydantoin in the treatment of convulsive disorders. *JAMA.* 1938;11:1068-73.

Miller CS, Damm DD. Incidence of verapamil-induced gingival hyperplasia in a dental population. *J Periodontol.* 1992;63(5):453-6.

Miranda J, Brunet L, Roset P, Berini L, Farre M, Mendieta C. Prevalence and risk of gingival overgrowth in patients treated with diltiazem or verapamil. *J Clin Periodontol.* 2005;32(3):294-8.

Modeer T, Wondimu B, Larsson E, Jonzon B. Levels of cyclosporin-A (CsA) in saliva in children after oral administration of the drug in mixture or in capsule form. *Scand J Dent Res.* 1992;100(6):366-70.

Montebugnoli L, Bernardi F, Magelli C. Cyclosporin-A-induced gingival overgrowth in heart transplant patients. A cross-sectional study. *J Clin Periodontol.* 1996;23(9):868-72.

Morisaki I, Kato K, Loyola-Rodriguez JP, Nagata T, Ishida H. Nifedipine-induced gingival overgrowth in the presence or absence of gingival inflammation in rats. *J Periodontal Res.* 1993;28(6.1):396-403.

Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque-induced gingival conditions. *J Periodontol.* 2018;89(1):17-27.

Myrillas TT, Linden GJ, Marley JJ, Irwin CR. Cyclosporin A regulates interleukin-1beta and interleukin-6 expression in gingiva: implications for gingival overgrowth. *J Periodontol.* 1999;70(3):294-300.

Nal Acar N, Kuru L, Noyan U. Gingival changes in a drug-induced gingival overgrowth patient using tacrolimus: a case report. *MÜSBED.* 2015;5:75-9.

Nemtoi A, Scutariu MM, Nemtoi A, Eva L, Dumitrescu GF, Plamadeala P, Costea CF. Clinical, imaging and histopathological correlations of gingival overgrowth: a retrospective analysis in northeastern Romanian population. *Rom J Morphol Embryol.* 2019;60(3):811-22.

Nery EB, Edson RG, Lee KK, Pruthi VK, Watson J. Prevalence of nifedipine-induced gingival hyperplasia. *J Periodontol.* 1995;66(7), 572-8.

Nitulescu EA, Craitoiu MM, Banita MI, Draghici E, Craitoiu S. (The involvement of TGF-beta1 and CTGF in regional gingival overgrowth. *Rom J Morphol Embryol.* 2012;53(1):143-50.

Nurmenniemi PK, Pernu HE, Knuuttila ML. Mitotic activity of keratinocytes in nifedipine- and immunosuppressive medication-induced gingival overgrowth. *J Periodontol.* 2001;72(2):167-73.

O'Valle F, Mesa F, Aneiros J, Gomez-Morales M, Lucena MA, Ramirez C. Gingival overgrowth induced by nifedipine and cyclosporin A. Clinical and morphometric study with image analysis. *J Clin Periodontol.* 1995;22(8):591-7.

Oliver RC, Holm-Pederen P, Loe H. The correlation between clinical scoring, exudate measurements and microscopic evaluation of inflammation in the gingiva. *J Periodontol.* 1969;40(4):201-9.

Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976;34(3):235-49.

Pamuk F, Cetinkaya BO, Gulbahar MY, Gacar A, Keles GC, Erisgin Z, Arik N. (2013). Effects of tacrolimus and nifedipine, alone or in combination, on gingival tissues. *J Periodontol*, 84(11), 1673-82.

Park M, Katz R, Shlipak MG, Weiner D, Tracy R, Jotwani V, Ix JH. Urinary markers of fibrosis and risk of cardiovascular events and death in kidney transplant recipients: the favorit trial. *Am j Transplant.* 2017;17(10):2640-9.

Pascu EI, Pisoschi CG, Andrei AM, Munteanu MC, Rauten AM, Scrieciu M, BaniTa IM. Heterogeneity of collagen secreting cells in gingival fibrosis-an immunohistochemical assessment and a review of the literature. *Rom J Morphol Embryol.* 2015;56(1):49-61.

Payne WA, Page RC, Ogilvie AL, Hall WB. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res.* 1975;10(2):51-64.

Pego SP, Coletta RD, Mendes DC, de Faria PR, Melo-Filho MR, Alves LR, Martelli-Junior H. Hereditary gingival fibromatosis: clinical and ultrastructural features of a new family. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2015;20(2):150-5.

Pejcic A, Djordjevic V, Kojovic D, Zivkovic V, Minic I, Mirkovic D, Stojanovic M. Effect of periodontal treatment in renal transplant recipients. *Med Princ Pract.* 2014;23(2):149-53.

Pernu HE, Knuuttila ML, Huttunen KR, Tiilikainen AS. Drug-induced gingival overgrowth and class II major histocompatibility antigens. *Transplantation.* 1994;57(12):1811-3.

Pernu HE, Pernu LM, Huttunen KR, Nieminen PA, Knuuttila ML. Gingival overgrowth among renal transplant recipients related to immunosuppressive medication and possible local background factors. *J Periodontol.* 1992;63(6):548-53.

Pernu HE, Pernu LM, Knuuttila ML. Effect of periodontal treatment on gingival overgrowth among cyclosporine A-treated renal transplant recipients. *J Periodontol*. 1993;64(11):1098-100.

Pieper JA. Evolving role of calcium channel blockers in heart failure. *Pharmacotherapy*. 1996;16(2.2):43-9.

Pierreux CE, Nicolas FJ, Hill CS. Transforming growth factor beta-independent shuttling of Smad4 between the cytoplasm and nucleus. *Mol Cell Biol*. 2000;20(23):9041-54.

Piersma B, Bank RA, Boersema M. Signaling in fibrosis: TGF-beta, WNT, and YAP/TAZ converge. *Front Med (Lausanne)*. 2015;2:59.

Pisoschi CG, Stanciulescu CE, Andrei AM, Berbecaru-Iovan A, Munteanu C, Popescu F, Banita IM. Role of transforming growth factor beta-connective tissue growth factor pathway in dihydropyridine calcium channel blockers-induced gingival overgrowth. *Rom J Morphol Embryol*. 2014;55(2):285-90.

Plemons JM, Dill RE, Rees TD, Dyer BJ, Ng MC, Iacopino AM. PDGF-B producing cells and PDGF-B gene expression in normal gingival and cyclosporine A-induced gingival overgrowth. *J Periodontol*. 1996;67(3):264-70.

Pundir AJ, Pundir S, Yeltiwar RK, Farista S, Gopinath V, Srinivas TS. (Treatment of drug-induced gingival overgrowth by full-mouth disinfection: A non-surgical approach. *J Indian Soc Periodontol*. 2014;18(3):311-5.,

Ramirez-Ramiz A, Brunet LL, Lahor-Soler E, Miranda-Rius J. On the cellular and molecular mechanisms of drug-induced gingival overgrowth. *Open Dent J*. 2017;11:420-35.

Ramon Y, Behar S, Kishon Y, Engelberg IS. Gingival hyperplasia caused by nifedipine-a preliminary report. *Int J Cardiol*. 1984;5(2):195-206.

Rateitschak-Plüss EM, Hefti A, Lörtscher R, Thiel G. Initial observation that cyclosporin-A induces gingival enlargement in man. *J Clin Periodontol.* 1983;10(3):237-46.

Rieppo L, Janssen L, Rahunen K, Lehenkari P, Finnila MAJ, Saarakkala S. Histochemical quantification of collagen content in articular cartilage. *PLoS One.* 2019;14(11):0224839.

Robertson IB, Rifkin DB. Regulation of the Bioavailability of TGF-beta and TGF-beta-related proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016;8(6):021907.

Roman-Malo L, Bullon B, de Miguel M, Bullon P. Fibroblasts collagen production and histological alterations in hereditary gingival fibromatosis. *Diseases.* 2019;7(2):39.

Romanos GE, Schroter-Kermani C, Hinz N, Bernimoulin JP. Distribution of fibronectin in healthy, inflamed and drug-induced gingival hyperplasia. *J Oral Pathol Med.* 1992;21(6):256-60.

Saito K, Mori S, Iwakura M, Sakamoto S. (Immunohistochemical localization of transforming growth factor beta, basic fibroblast growth factor and heparan sulphate glycosaminoglycan in gingival hyperplasia induced by nifedipine and phenytoin. *J Periodontal Res.* 1996;31(8):545-5.

Sanz M. Gingival Enlargement. In: Harpenau LA, Kao RT, Lundergan WP, Sanz M, eds. *Hall's Critical Decisions in Periodontology and Dental Implantology.* 5th ed. Connecticut: Shelton; 2013, p: 57-9.

Sato M, Muragaki Y, Saika S, Roberts AB, Ooshima A. Targeted disruption of TGF-beta1/Smad3 signaling protects against renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction. *J Clin Invest.* 2003;112(10):1486-94.

Segelnick SL, Weinberg MA. Reevaluation of initial therapy: when is the appropriate time? *J Periodontol.* 2006;77(9):1598-1601.

Sekelsky JJ, Newfeld SJ, Raftery LA, Chartoff EH, Gelbart WM. (Genetic characterization and cloning of mothers against dpp, a gene required for decapentaplegic function in *Drosophila melanogaster*. *Genetics.* 1995;139(3):1347-58.

Seymour RA. Effects of medications on the periodontal tissues in health and disease. *Periodontol 2000*. 2006;40:120-9.

Seymour RA, Ellis JS, Thomason JM. Risk factors for drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol*. 2000;27(4):217-23.

Seymour RA, Ellis JS, Thomason JM, Monkman S, Idle JR. Amlodipine-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol*. 1994;21(4): 281-3.

Seymour RA, Heasman PA. Drugs and the periodontium. *J Clin Periodontol*. 1988;15(1):1-16.

Seymour RA, Jacobs DJ. Cyclosporin and the gingival tissues. *J Clin Periodontol*. 1992;19(1):1-11.

Seymour RA, Smith DG. The effect of a plaque control programme on the incidence and severity of cyclosporin-induced gingival changes. *J Clin Periodontol*. 1991;18(2):107-10.

Seymour RA, Smith DG, Turnbull DN. The effects of phenytoin and sodium valproate on the periodontal health of adult epileptic patients. *J Clin Periodontol*. 1985;12(6):413-9.

Seymour RA, Thomason JM, Ellis JS. The pathogenesis of drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol*. 1996;23(3.1):165-75.

Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*. 1964;22:121-35.

Singer SL, Goldblatt J, Hallam LA, Winters JC. Hereditary gingival fibromatosis with a recessive mode of inheritance. Case reports. *Aust Dent J*. 1993;38(6):427-32.

Sobral LM, Aseredo F, Agostini M, Bufalino A, Pereira MC, Graner E, Coletta RD. Molecular events associated with cyclosporin A-induced gingival overgrowth are attenuated by Smad7 overexpression in fibroblasts. *J Periodontal Res*. 2012;47(2):149-58.

Somacarrera ML, Lucas M, Scully C, Barrios C. Effectiveness of periodontal treatments on cyclosporine-induced gingival overgrowth in transplant patients. *Br Dent J*. 1997;183(3):89-94.

Sooriyamoorthy M, Gower DB, Eley BM. Androgen metabolism in gingival hyperplasia induced by nifedipine and cyclosporin. *J Periodontal Res*. 1990;25(1):25-30.

Sooriyamoorthy M, Harvey W, Gower DB. The use of human gingival fibroblasts in culture for studying the effects of phenytoin on testosterone metabolism. *Arch Oral Biol*. 1988;33(5):353-9.

Srivastava AK, Kundu D, Bandyopadhyay P, Pal AK. Management of amlodipine-induced gingival enlargement: Series of three cases. *J Indian Soc Periodontol*. 2010;14(4):279-81.

Subramani T, Rathnavelu V, Alitheen NB. The possible potential therapeutic targets for drug induced gingival overgrowth. *Mediators Inflamm*. 2013;639468.

Subramani T, Rathnavelu V, Alitheen NB, Padmanabhan P. Cellular crosstalk mechanism of Toll-like receptors in gingival overgrowth (review). *Int J Mol Med*. 2015;35(5):1151-8.

Takei HH. Surgical treatment. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, eds. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. 13th ed. Philadelphia: Elsevier; 2019, p:585-688.

Tavassoli S, Yamalik N, Caglayan F, Caglayan G, Eratalay K. The clinical effects of nifedipine on periodontal status. *J Periodontol*. 1998;69(2):108-12.

Thomason JM, Ellis JS, Kelly PJ, Seymour RA. Nifedipine pharmacological variables as risk factors for gingival overgrowth in organ-transplant patients. *Clin Oral Investig*. 1997;1(1):35-9.

Thomason JM, Seymour RA, Ellis JS, Kelly PJ, Parry G, Dark J, Idle JR. Iatrogenic gingival overgrowth in cardiac transplantation. *J Periodontol*. 1995;66(8):742-6.

Thomason JM, Seymour RA, Ellis JS, Kelly PJ, Parry G, Dark J, Ilde JR. Determinants of gingival overgrowth severity in organ transplant patients. An examination of the role of HLA phenotype. *J Clin Periodontol*. 1996;23(7):628-34.

Thomason JM, Seymour RA, Rawlins MD. Incidence and severity of phenytoin-induced gingival overgrowth in epileptic patients in general medical practice. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1992;20(5):288-91.

Thomason JM, Seymour RA, Rice N. The prevalence and severity of cyclosporin and nifedipine-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol*. 1993;20(1):37-40.

Thompson AL, Herman WW, Konzelman J, Collins MA. Treating patients with drug-induced gingival overgrowth. *J Dent Hyg*. 2004;78(4):12.

Thompson E, Gillespie J. Hyperplasia of the gums following dilantin therapy, with gingivectomy for correction. *JADA*. 1941;28:1613-5.

Tipton DA, Dabbous MK. Autocrine transforming growth factor beta stimulation of extracellular matrix production by fibroblasts from fibrotic human gingiva. *J Periodontol*. 1998;69(6):609-19.

Tokgoz B, Sari HI, Yildiz O, Aslan S, Sipahioglu M, Okten T, Utas C. Effects of azithromycin on cyclosporine-induced gingival hyperplasia in renal transplant patients. *Transplant Proc*. 2004;36(9):2699-2702.

Toyo-Oka T, Nayler WG. Third generation calcium entry blockers. *Blood Press*. 1996;5(4):206-208.

Trackman PC, Kantarci. Molecular and clinical aspects of drug-induced gingival overgrowth. *J Dent Res*. 2015;94(4):540-6.

Uzel MI, Kantarci A, Hong HH, Uygur C, Sheff MC, Firatli E, Trackman PC. Connective tissue growth factor in drug-induced gingival overgrowth. *J Periodontol*. 2001;72(7):921-31.

Wang AL, Iadecola C, Wang G. New generations of dihydropyridines for treatment of hypertension. *J Geriatr Cardiol*. 2017;14(1):67-72.

Wilson RF, Morel A, Smith D, Koffman CG, Ogg CS, Rigden SP, Ashley FP. Contribution of individual drugs to gingival overgrowth in adult and juvenile renal transplant patients treated with multiple therapy. *J Clin Periodontol*. 1998;25(6):457-64.

Wondimu B., Reinholt FP, Modeer T. Stereologic study of cyclosporin A-induced gingival overgrowth in renal transplant patients. *Eur J Oral Sci*. 1995;103(4):199-206.

Wrana JL, Attisano L. The Smad pathway. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2000;11(1-2):5-13.

Wright HJ, Chapple IL, Blair F, Matthews JB. Crevicular fluid levels of TGFbeta1 in drug-induced gingival overgrowth. *Arch Oral Biol*. 2004;49(5):421-5.

Wright HJ, Chapple IL, Matthews JB. TGF-beta isoforms and TGF-beta receptors in drug-induced and hereditary gingival overgrowth. *J Oral Pathol Med*. 2001;30(5):281-9.

Wu CF, Chiang WC, Lai CF, Chang FC, Chen YT, Chou YH, Lin SL. (Transforming growth factor beta-1 stimulates profibrotic epithelial signaling to activate pericyte-myofibroblast transition in obstructive kidney fibrosis. *Am J Pathol*. 2013;182(1):118-31.

Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol*. 2004;4(8):583-94.

Yamakage M, Namiki A. Calcium channels--basic aspects of their structure, function and gene encoding; anesthetic action on the channels-a review. *Can J Anaesth*. 2002;49(2):151-64.

Yildirim N, Simsek D, Kose S, Yildirim AGS, Guven C, Yigitturk G, Erbas O. The protective effect of *Ginkgo biloba* in a rat model of ovarian ischemia/reperfusion injury: Improvement in histological and biochemical parameters. *Adv Clin Exp Med*. 2018;27(5):591-7.

Zackin SJ, Weisberger D. Hereditary gingival fibromatosis. Report of a family. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1961;14:828-36.

Zeisberg EM, Tarnavski O, Zeisberg M, Dorfman AL, McMullen JR, Gustafsson E, Kalluri R. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med*. 2007;13(8):952-61.

Zhou J, Meng LY, Ye XQ, Von den Hoff JW, Bian Z. Increased expression of integrin alpha2 and abnormal response to TGF-beta1 in hereditary gingival fibromatosis. *Oral Dis*. 2009;15(6):414-21.

Zhu H, Kavsak P, Abdollah S, Wrana JL, Thomsen GH. A SMAD ubiquitin ligase targets the BMP pathway and affects embryonic pattern formation. *Nature*. 1999;400(6745):687-93.

Zoellner H, Chapple CC, Hunter N. Microvasculature in gingivitis and chronic periodontitis: disruption of vascular networks with protracted inflammation. *Microsc Res Tech*. 2002;56(1):15-31.

Zoheir N, Hughes FJ. The management of drug-influenced gingival enlargement. *Prim Dent J*. 2020;8(4):34-9.

9. EKLER

Ek 1. Gönüllü Bilgilerdime Formu

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU

Dişeti Büyümesi Nedir?

Dişetin hacimsel olarak artış gösterdiği dişeti büyümesi, iltihap, genetik veya bazı ilaçların yan etkileri olarak ortaya çıkar.

Dişeti Büyümesinin Nedenleri Nelerdir?

Dişeti büyümesine neden olan faktörler; iltihap, bazı ilaçlar, hamilelik, ergenlik dönemi gibi durumlar, tümörler, ve genetik hastalıklardır.

Dişeti büyümesinin boyutları nasıl saptanır?

Dişeti büyümesinin boyutları, yanak ekartörleri ve ağız içi aynalar yardımıyla çekilen tüm ağız içi fotoğrafların üzerinde ölçüm yapılarak belirlenir ya da ölçü maddesiyle ağzın ölçüsü alınarak oluşturulan alçı model üzerinden ölçüm yapılarak elde edilir.

Dişeti büyümesinin tedavi seçenekleri nelerdir?

Dişeti büyümesinin tedavisi 2 aşamadan oluşur. Bu aşamalar cerrahi olmayan ve cerrahi periodontal tedavilerdir. Cerrahi olmayan periodontal tedavi hasta tarafından diş fırçası, diş ipi ve ara yüz fırçası kullanılarak mikrobiyal dental plağın temizlenmesi ve hekim tarafından diş ve kök yüzeyindeki birikintilerin özel aletler kullanılarak uzaklaştırılmasını içerir. Cerrahi periodontal tedavi büyümüş dişeti dokularını, dişeti dokusunun bozulmuş yapısını ve dişeti altındaki çene kemiğinin erimesini tedavi etmek amacıyla uygulanır.

Periodontal Tedavi Nedir?

Periodontal tedavi, hekim tarafından hastaya model üzerinde anlatılan ve ayna önünde hastaya tatbik ettirilen ağız hijyen eğitimi ile başlar. Başlangıç tedavisi diye tanımladığımız diş ve diş kökü yüzeyindeki diştaşı ve birikintilerin uzaklaştırılması ve diş kökü yüzeyinin düzleştirilmesi ile devam eder. Daha sonra hasta, periyodik olarak 6 aylık kontrollere alınır.

Dişeti Hastalığı Tedavi Edilmezse Ne Olur?

Bu hastalıktan zarar gördüğü için kaybedilmiş olan diş ve dişin destek dokularının tümüyle eski haline dönmesi mümkün değildir. Yapılan tedavi ile hastalığın ilerlemesi durdurulur, hastanın kendi kendine rahatça temizleyebileceği bir ortam yaratılır, böylece mikropların birikmesi önlenir. Eğer bu tedavi yapılmazsa bu hastalık ilerler, dişetlerinden iltihap çıkışı başlar, zaman içerisinde dişler sallanmaya başlar ve bu süreç diş kaybı ile sonuçlanabilir.

Çalışmanın Amacı:

“Farklı etiyolojiye sahip dişeti büyümelerinde fibrotik komponentin immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi” isimli çalışmamızda fibrotik bileşen oranlarının farklı olduğu enflamatuvar dişeti büyümesi (EDB) ve ilaca bağlı dişeti büyümesi (İBDB) görülen hastalardan COPT sonrası periodontal cerrahi tedavi esnasında çıkarılan dokularda biyokimyasal parametreler açısından değerlendirilmesi, sağlıklı veya herediter gingival fibromatosis (HGF) tanısı konulan bireylerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yapılacak İşlemler:

- Ağız içi fotoğrafları alınması
- Aljinat ölçü maddesi kullanılarak ağzın aljinat ölçüsünün alınması ve alçı modellerin elde edilmesi

- Klinik ölçümlerin yapılması
- Enflamatuvar dişeti büyümesi olan bireylerden dişeti büyümesi görülen bölgelerden diştaşı temizliği öncesi minimum dişeti dokusu alınması
- Diştaşı ve kök yüzeyi temizliği yapılması
- Dişeti büyümesinin iyileşmediği, EDB, İBDB ve HGF tanısı konulan ve cerrahi periodontal tedavi endikasyonu olan bireylerden cerrahi esnasında çıkarılıp atılan dişeti dokularının muhafaza edilmesi
- Dişeti büyümesi olmayan periodontal açıdan sağlıklı bireylerden kron boyu uzatma ve diş çekimi endikasyonu olan bölgelerden cerrahi esnasında çıkarılıp atılan dişeti dokularının muhafaza edilmesi

Çalışma kapsamında, ağız içindeki plak miktarının, dişetindeki kanama şiddetinin, diş-dişeti arasındaki cep derinliğinin ölçümleri milimetrik ölçüm yapabilen periodontal sond kullanılarak yapılacak. Bu ölçümler sırasında periodontal sondun basıncını hissedebilirsiniz ve ağzınızı uzun süre açık tutmanız gerekebilir. Diştaşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işlemleri sonrası dişlerde geçici süre hassasiyet; doku örneği alınması sonrası minimum düzeyde kanama, hassasiyet ve ödem oluşabilir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek. herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir.

☐ Alınan örneklerin **sadece bu çalışmada** kullanılmasına izin vermemekteyim.

☐ Alınan örneklerin ileriki çalışmalarda da kullanılmasına izin vermemekteyim.

Gönüllü Hakları, Sorumlulukları ve Gizlilik:

Araştırmada tamamiyle kendi isteğiniz doğrultusunda yer almaktasınız. Eğer isterseniz bu çalışmada yer almayabilirsiniz veya herhangi bir aşamada sebep göstermeksizin çalışmadan isteğiniz doğrultusunda ayrılabilirsiniz.

Bu çalışmada yer aldığınız süre içinde adınız ve tıbbi kayıtlarınız gizli tutulacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız etik kurula, yoklama yapanlara, araştırmacılara ve Sağlık

Bakanlığı'na istek olduğu takdirde verilecektir. Bu olur formunu imzalayarak yukarıda adı geçen kurum ve kişilerin söz konusu çalışma verilerine erişebilmelerini ve bu çalışmayla ilgili daha ileri araştırmalar yapılabileceğini (çalışmadan ayrılırsanız dahi) kabul ediyorsunuz. Bu süreçte açığa çıkan bilgiler gizli kalacaktır. Çalışma verileri yurtiçinde ve yurtdışında rapor, yayın veya tebliğ olarak yayınlanabilir, ancak adınız ve kişisel bilgileriniz hiçbir şekilde açıklanmayacak ve çalışmayla ilgili veriler izlenerek size ulaşamayacaktır. Çalışmaya gönüllü olarak katıldığınızdan dolayı tedaviniz için herhangi bir ücret talep edilmeyecektir.

Bu çalışmaya katılarak, çalışmadan ayrılırsanız dahi herhangi bir verinin kullanımını sınırlamamayı kabul ediyorsunuz. Kişisel verilerinizin dünyadaki tüm Sağlık Bakanlıklarına aktarılabilceğini biliyor ve kabul ediyorsunuz. İlgili ve koruma yasalarınca tanınan haklarınız etkilenmeyecektir.

Herhangi bir sorunuz olduğunda lütfen bize danışınız.

Prof. Dr. Leyla Kuru

Tel: 0216 421 16 21 (Dahili:1141)

Dt. Onur Eroğlu

Tel: 0216 421 16 21 (Dahili:1131)

EK 2. Gönüllü Onay Formu

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Çalışmanın Adı:

FARKLI ETİYOLOJİYE SAHİP DİŞETİ BÜYÜMELERİNDE FİBROTİK KOMPONENTİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Yukarıda araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum (veya bu bilgiler bana okundu). Bunlar hakkında bana yazılı veya sözlü açıklamalar yapıldı bu form ile ilgili soru soracak zamanım ve fırsatım oldu ve tüm sorularım cevaplandı. Bu formun tamamını ve tanımlanan riskleri okudum. Bu koşullarda söz konusu çalışmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum. Tıbbi tarihçemi de içiren kendim hakkında verdiğim her türlü bilginin doğruluğunu teyit ediyorum.

Sayın Dt. Onur Eroğlu tarafından Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi amacıyla araştırmacı tarafından araştırmadan çıkartılabileceğimi de biliyorum.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük

altına girmeyeceğimi biliyorum. Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dt. Onur Eroğlu’nu, Marmara Üniversitesi Başibüyük Sağlık Yerleşkesi, Dişhekimliği Fakültesi, Başibüyük Yolu 9/3 34854 Başibüyük / Maltepe / İstanbul, 0216 421 16 21-1131’den arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalamış bulunduğum bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir. Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi-Telefon no.:

İmzası:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,

Adı-Soyadı:

Adresi-Telefon no.:

İmzası:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

İmzası:

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin,

Adı-Soyadı:

İmzası:

EK 3. Takip Formu

TAKİP FORMU

Hasta Adı Soyadı:

Kod:

Tarih:

Yaş/Cinsiyet:

Meslek:

Dental Anamnez

Periodontal Hastalık:

Tek taraflı çiğneme(sağ/sol):

Ağrı:

Tırnak Yeme:

Kanama:

Sigara Kullanımı:

Dişeti Çekilmesi:

Daha önce dişeti tedavisi yapıldı mı?

Ağız Kokusu:

Diş fırçalama sıklığı/şekli:

Dişlerde yer değiştirme/sallantı:

Arayüz Temizliği:

Diş sıkma/gıcırdatma:

Ağızdan solunum:

Ailedeki dişeti hastalığı:

Tıbbi Anamnez

Sarılık:

Tüberküloz/AIDS:

Ateşli Romatizma:

Hipertansiyon:

Diabet:

Hormonal hastalıklar:

Kalp-damar hastalığı:

Sindirim sistemi hastalıkları:

Karaciğer hastalığı:

Sürekli kullanılan ilaçlar :

Böbrek hastalığı:

Solunum sistemi hastalığı:

Kanama zamanı, pıhtılaşma zamanı:

Kan hastalığı, anemi:

Alerji:

Ailedeki genel hastalıklar:

Dişeti Büyümesi:

Başlama Zamanı :

Dişeti Büyümesi ile ilgili bir tedavi yapıldı mı?

Tipi (Fibrotik/Ödematöz):

Grubu:

PLAK İNDEKSİ (Silness&Löe)

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

GİNGİVAL İNDEKS (Löe&Silness)

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

SONDALAMA DERİNLİĞİ

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

SONDALAMADA KANAMA

[illegible]

DİŞETİ BÜYÜMESİ İNDEKSİ (Seymour RA/1985)

VERTIKAL		13	12	11	21	22	23
	V						
	P						
	L						
	V						
		43	42	41	31	32	33

HORIZONTAL		13	12	11	21	22	23
	V						
	P						
	L						
	V						
		43	42	41	31	32	33

DİŞETİ BÜYÜMESİ İNDEKSİ (Ellis JS, Seymour RA/2001)

13		12		11		21		22		23
V										
P										
L										
V										
43		42		41		31		32		33