
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

TÜKÜRÜK İÇERİSİNDEKİ ENFLAMATUVAR BELİRTEÇ SEVİYELERİNİN SİRKADİYEN RİTİM İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Abdulnasır GÜRBÜZ

UZMANLIK TEZİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

MAYIS 2023

Abdulnasır GÜRBÜZ tarafından hazırlanan "TÜKÜRÜK İÇERİSİNDEKİ ENFLAMATUVAR BELİRTEÇ SEVİYELERİNİN SİRKADİYEN RİTİM İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalında UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR

Periodontoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Uzmanlık Tezi olduğunu onaylıyorum. …….……..

Başkan : Prof. Dr. Ayşe Emel ÖKTE

Periodontoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Uzmanlık Tezi olduğunu onaylıyorum. …….……..

Üye : Prof. Dr. Eylem Ayhan ALKAN

Periodontoloji Anabilim Dalı, Yıldırım Beyazıt Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Uzmanlık Tezi olduğunu onaylıyorum. …….……..

Tez Savunma Tarihi: 25.05.2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Uzmanlık Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Kahraman GÜNGÖR

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

ETİK BEYAN

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

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

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

Abdulnasır GÜRBÜZ

25.05.2023

TÜKÜRÜK İÇERİSİNDEKİ ENFLAMATUVAR BELİRTEÇ SEVİYELERİNİN SİRKADİYEN RİTİM İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

(Uzmanlık Tezi)

Abdulnasır GÜRBÜZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

Mayıs 2023

ÖZET

Tükürük içeriğinin sirkadiyen ritimden etkilendiği ve gün içerisinde farklılıklar gösterebildiği ileri sürülmekle birlikte, literatürde bu konu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Tükürük içeriğindeki biyobelirteçler ile ilgili yapılan çalışmalarda da tükürük örneklerinin toplanma saati ile ilgili genel bir konsensus olmadığı görülmektedir. Çalışmamızda 10.00, 12.00, 14.00, 16.00, 18.00 ve 22.00'de olmak üzere 6 farklı zaman diliminde periodontitisli ve sağlıklı bireylerden elde edilen uyarılmamış tükürükte periodontal hastalıkların patogenezini incelenmesinde sıklıkla tercih edilen IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve kortizol düzeylerinin incelenmesi, sirkadiyen ritimin biyobelirteçler üzerinde olası etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmaya periodontal sağlıklı 20 ve (Evre 3 veya 4) periodontitise sahip 20 birey dahil edildi. Plak indeksi, gingival indeks, sondlamada kanama indeksi, sondlamada cep derinliği, klinik ataşman seviyesi gibi klinik periodontal parametreler kaydedildi, Standart polietilen tamponlarla tükürük örnekleri toplandı ve ELISA yöntemi ile incelendi. İstatistiksel analizler sonucunda tüm periodontal klinik parametreler; periodontitise sahip gruplarda, periodontal sağlıklı gruplara kıyasla anlamlı seviyede yüksek tespit edildi ($p<0.001$). 14.00 izlem zamanında periodontitis grubu tükürük IL-1β seviyesi periodontal sağlıklı grubundan yüksek bulundu ($p<0,05$). 12.00, 14.00 ve 18.00 izlem zamanlarında periodontitis grubunda TNF-α seviyeleri periodontal sağlıklı grubuna kıyasla yüksek bulundu ($p<0,05$). 12:00 izlem zamanında periodontitis grubu MMP-8 seviyeleri sağlıklı grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Bulgularımız, tükürükte periodontal hastalıklarla ilişkili biyobelirteçlerin değerlendirilmesinde gün içerindeki örnekleme zamanlarının, elde edilen sonuçlar üzerinde etkili olabileceğini gösterdi.

Bilim Kodu : 1048
Anahtar Kelimeler : Sirkadiyen ritim, tükürük, enflamatuvar biyobelirteçler
Sayfa Adedi : 110
Danışman : Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR

EVALUATION OF THE ASSOCIATION BETWEEN INFLAMMATORY BIOMARKER LEVELS IN SALIVA AND CIRCADIAN RHYTHM

(Speciality Thesis)

Abdulnasır GÜRBÜZ

GAZİ UNIVERSITY

FACULTY OF DENTISTRY

May 2023

ABSTRACT

It is suggested that the content of saliva is affected by the circadian rhythm and may vary throughout the day. Nevertheless, there are limited studies in the literature on this topic. In studies related to biomarkers in saliva, there doesn't seem to be a consensus on the collection time of saliva samples. In our study, we aimed to investigate the salivary levels of IL-1β, TNF-α, MMP-8, and cortisol in unstimulated saliva samples collected from periodontitis patients and healthy individuals at 6 different time intervals: 10.00, 12.00, 14.00, 16.00, 18.00, and 22.00. We aimed to evaluate the possible effects of the circadian rhythm on salivary inflammatory biomarkers. The study included 20 periodontally healthy individuals and 20 patients with Stage 3 or 4 periodontitis. Clinical periodontal parameters such as plaque index, gingival index, bleeding on probing, probing depth, and clinical attachment level were recorded. Saliva samples were collected using standard polyethylene swabs in six sampling time and analyzed using the ELISA method. According to the statistical analysis, all clinical periodontal parameters were found to be significantly higher in the group with periodontitis compared to the periodontal health group ($p<0.001$). At the 14.00 observation time, the saliva IL-1β level was significantly higher in the periodontitis group than in the periodontal health group ($p<0.05$). At the 12.00, 14.00, and 18.00 observation times, TNF-α levels were significantly higher in the periodontitis group than in the periodontal health group ($p<0.05$). At the 12.00 observation time, MMP-8 levels were statistically higher in the periodontitis group than in the periodontal health group ($p<0.05$). Our findings indicated that salivary sampling times throughout the day may affect the results of the salivary inflammatory biomarker levels associated with periodontal diseases.

Science Code : 1048
Key Words : Circadian rhythm, saliva, inflammatory biomarkers
Page Number : 110
Supervisor : Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimin ilk gününden itibaren çok değerli klinik ve akademik bilgisini benimle paylaşan, doğru yönde ilerleyebilmemi ve doğru bir bakış açısı kazanmamı sağlayan, desteğini hep hissettiğim ve hayatım boyunca kendime örnek alacağım kıymetli hocam Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR'e,

Değerli bilgileriyle mesleki eğitimime ve hayat görüşüme çok şey katan Prof. Dr. Mehmet Yalım'a,

Bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan asla çekinmeyen, güleryüzüyle bana her zaman destek olan Prof. Dr. F. Berrin ÜNSAL'a,

Değerli klinik ve akademik bilgisini benimle paylaşan tüm hocalarıma,

Tez çalışmalarım sırasında gösterdiği tüm emek, yardım ve özveri için Doç. Dr. Sevim GÖNEN'e,

Günümün çoğunu birlikte geçirdiğim, her çalışmamda yanımda olup bana cesaret veren, her türlü yardımını ve dostluğunu benimle paylaşan değerli eş kıdemlilerim Dt. Mukaddes YEREBAKAN ve Dt. İsmail Furkan ACAR'a,

Uzmanlık eğitimimi sıcak ve keyifli bir ortamda geçirmemi sağlayan, her ihtiyacımda yardımıma koşan başta Dr. Dt. Bejna BOZYEL, Dt. Çağlar KALKAN, Dt. Deren SEZGİN olmak üzere eski ve yeni tüm çalışma arkadaşlarıma ve Periodontoloji A.B.D. personeline,

Emeklerini hiçbir zaman ödeyemeceğim ve her zaman kendimi borçlu hissedeceğim çok değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDH-2022-7427 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ x

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xi

RESİMLERİN LİSTESİ xii

SİMGELER VE KISALTMALAR xiii

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 5

2.1. Periodontal Hastalıklar 5

2.1.1. Periodontal sınıflandırma 6

2.1.2. Periodontal hastalık patogenezi 13

2.1.3. Periodontal hastalıklarla ilişkili biyobelirteçler 16

2.2. Biyolojik Ritim 17

2.2.1. Sirkadiyen ritim 18

2.2.2. Sirkadiyen ritmi etkileyen faktörler 20

2.2.3. Sirkadiyen ritimden etkilenen sistemler 22

2.3. Tükürük 23

2.3.1. Tükürük bezleri 23

2.3.2. Tükürük sınıflandırılması 24

2.3.3. Tükürük içeriği 25

2.3.4. Tükürük fonksiyonları 27

2.3.5. Tükürük akışı ve sinirsel düzenlemesi 28

Sayfa

2.3.6. Teşhiste tükürüğün önemi 30
2.3.7. Tükürük örneklerinin toplanması 30
2.3.8. Periodontal hastalıklar ve tükürük biyobelirteçleri 31
2.3.9. Sirkadiyen ritim ve tükürük biyobelirteçleri 37
3. MATERYAL VE YÖNTEM 41
3.1. Hasta Seçimi 41
3.2. Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması 42
3.3. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi 42
3.4. Çalışma Planı 43
3.5. Periodontal Değerlendirme 44
3.5.1. Plak indeksi (Pİ) 44
3.5.2. Gingival indeks (Gİ) 44
3.5.3. Sondlamada kanama indeksi (SKİ) 45
3.5.4. Cep derinliği (CD) 45
3.5.5. Klinik ataşman seviyesi (KAS) 46
3.6. Tükürük Örneklerinin Toplanması 46
3.7. ELİSA Değerlendirme 47
3.8. İstatistiksel Analiz 50
4. BULGULAR 51
4.1. Klinik Bulgular 51
4.2. Laboratuvar Bulguları 52
4.2.1. Tükürük IL-1β düzeyleri 52
4.2.2. Tükürük TNF-α düzeyleri 53
4.2.3. Tükürük MMP-8 düzeyleri 55
4.2.4. Tükürük kortizol düzeyleri 56
4.2.5. Laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri 57

Sayfa

5. TARTIŞMA 59

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 75

KAYNAKLAR 77

EKLER 99

EK-1. Etik Kurul Kararı 100

EK-2. Bilgilendirilmiş Hasta Onam Formu 105

EK-3. Anamnez Formu 107

EK-4. Periodontal İndex Formu 108

ÖZGEÇMİŞ 110

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. 1999 Periodontal hastalık sınıflandırması 6

Çizelge 2.2. 2017 Periodontal hastalık sınıflandırması 9

Çizelge 2.3. Plak ile ilişkili periodontal hastalıklar için periodontal sağlığın değerlendirmesi 10

Çizelge 2.4. Periodontitis evreleri 12

Çizelge 2.5. Periodontitis dereceleri 13

Çizelge 2.6. Uyarılmış ve uyarılmamış tükürüğün bileşimi 27

Çizelge 2.7. Tükürüğün fonksiyonları 28

Çizelge 2.8. Tükürükte biyobelirteç inceleyen bazı güncel diş hekimliği çalışmaları ... 32

Çizelge 2.9. Periodontal hastalığın tükürük biyobelirteçleri 33

Çizelge 2.10. Tükürükte sirkadiyen ritim etkilerini inceleyen sınırlı sayıdaki araştırmalar 39

Çizelge 3.1. Silness ve Löe'nin plak indeks skorları 44

Çizelge 3.2. Löe ve Silness'in gingival indeks skorları 45

Çizelge 4.1. Gönüllülerin tanımlayıcı özelliklerinin gruplara göre karşılaştırılması 51

Çizelge 4.2. Periodontal klinik indeks değerleri 52

Çizelge 4.3. Gruplara göre IL-1β (pg/ml) örneklem zamanlarının incelenmesi 53

Çizelge 4.4. Gruplara göre TNF-α (ng/L) örneklem zamanlarının incelenmesi 54

Çizelge 4.5. Gruplara göre MMP-8 (ng/ml) örneklem zamanlarının incelenmesi 55

Çizelge 4.6. Gruplara göre kortizol (ng/ml) örneklem zamanlarının incelenmesi 56

Çizelge 4.7. Tükürük IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve Kortizol değerleri arasındaki korelasyon incelemesi 57

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Periodontal hastalığın patogenezi 14

Şekil 2.2. Merkezi ve periferal saat ilişkisi 19

Şekil 2.3. Tükürük bezlerinin uyarılmamış tükürük salgılama oranı 24

Şekil 2.4. Tükürük bezlerinin uyarılmış tükürük salgılama oranı 25

Şekil 3.1. Gönüllü sayısının belirlenebilmesi için yapılan güç analizi 42

Şekil 3.2. Akış şeması 43

Şekil 3.3. Standart solüsyon hazırlanması için protokolü 48

Şekil 4.1. Periodontal sağlıklı ve periodontitisli gruplarda IL-1β düzeylerinin karşılaştırılması 53

Şekil 4.2. Periodontal sağlıklı ve periodontitisli gruplarda TNF-α düzeylerinin karşılaştırılması 54

Şekil 4.3. Periodontal sağlıklı ve periodontitisli gruplarda MMP-8 düzeylerinin karşılaştırılması 55

Şekil 4.4. Periodontal sağlıklı ve periodontitisli gruplarda kortizol düzeylerinin karşılaştırılması 56

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 3.1. a) Salivette® Cortisol görünüm; b) Salivette® Cortisol tüp içerindeki standart steril polietilen rulonun görünümü 46

Resim 3.2. Örneklerin sıralanması ve oda sıcaklığında bekletilmesi 47

Resim 3.3. Substrat eklendikten sonra görünüm 49

Resim 3.4. Oda sıcaklığında inkübasyon görünüm 49

Resim 3.5. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra görünüm 49

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
ng	Nanogram
pg	Pikogram
s	Saniye
vb	Ve benzeri
µl	Mikrolitre

Kısaltmalar	Açıklamalar
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
Ca	Kalsiyum
CD	Cep Derinliği
CgA	Kromogranin A
Cl	Klorür
CRP	C-Reaktif Protein
DOS	Dişeti Oluğu Sıvısı
ELAM-1	Endotel Lökosit Adezyon Molekülü-1
ELISA	Enzime Bağlı İmmünosorbent Analizi
Gİ	Gingival İndeks
HbA1c	Hemoglobin A1c
HHA	Hipotalamus, Hipofiz ve Adrenal Bez
HRP	Bayır Turpu Peroksidazı
ICAM-1	Hücrelerarası Adezyon Molekülü -1
ICPT	Tip I Kolajenin C-Telopeptid Piridinolin Çapraz Bağları

Kısaltmalar	Açıklamalar
Ig	İmmunoglobulin
IL	İnterlökin
IL-1Ra	İnterlökin-1 Reseptör Antagonisti
K	Potasyum
KAS	Klinik Ataşman Seviyesi
LPS	Lipopolisakkarid
Mg	Magnezyum
MIP-1α	Makrofaj İnflamatuar Protein-1 Alfa
MMP	Matriks Metalloproteinaz
Na	Sodyum
OPG	Osteoprotegerin
PGE2	Prostoglandin E2
Pİ	Plak İndeks
PMNL	Polimorfonükleer Lökositler
RANKL	Nükleer Faktör-Kappa B'nin Reseptör Aktivatörü
REM/non-REM	Hızlı Göz Hareketlerinin Olduğu/Hızlı Göz Hareketlerinin Olmadığı
RHT	Retinohipotalamik Yol
SKİ	Sondlamada Kanama İndeksi
SKN	Suprakiazmatik Nükleus
TIMP	Metalloproteinazların Doku İnhibitörleri
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör-Alfa
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar, diş yüzeyindeki plak birikimi, bakteri ve bakteri ürünlerine cevap oluşturan konak yanıtı ve inflamasyonla karakterize, periodontal dokuların yaygın olarak etkilenebildiği, toplumda yüksek oranda gözlenen, lokal, kronik ve enflamatuvar bir hastalıktır [1]. Periodontal hastalıklar lokal, sistemik, genetik, çevresel ve davranışsal risk faktörleri arasındaki etkileşimi içeren multifaktöriyel bir durumdur. Bu risk faktörleri, bireyin periodontal enfeksiyona verdiği yanıtta önemli bir rol oynar [2]. Yetersiz veya fazla uyku süresi, düşük uyku kalitesi ve vardiyalı çalışma gibi faktörlerin periodontal hastalıklar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [3].

Periodontal hastalıkların ana etkeni olan mikrobiyal dental plağın, hastalığa sahip bireylerin hepsinde görünmesine karşın, bireylerin hastalık şiddetlerinin farklı olduğu gözlenmektedir. Periodontal hastalık sürecindeki yıkımın patojen bakterilerin yıkım ürünleri ile bu ürünlere karşı konak cevabından kaynaklandığı düşünülmektedir [4, 5]. Bakterilerin metabolik ürünlerinin tanınması ve uygun hücrelere sunulmasından sonra, konak cevabı olarak monositler ve aktive edilmiş makrofajlar tarafından tümör nekroz faktör-alfa (TNF-α), interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 (IL-6) sitokinleri salınır [6, 7]. Sitokinler, bağışıklık tepkilerini düzenleyen ve belirleyen aynı zamanda hücreler arası karmaşık iletişim ağının yapılandırılması ve sürdürülmesinden sorumlu düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir [8]. TNF-α ve IL-1, matriks metalloproteinazların (MMP) ve nükleer faktör-kappa B'nin reseptör aktivatörün (RANKL) salgılanmasını uyarır ve durum ekstraselüler matriksin ve alveolar kemiğin yıkımına neden olur [9].

Biyolojik ritim, dünyanın kendi ekseni ve güneş etrafında dönmesiyle organizmalarda oluşan periyodik genetik, moleküler, fizyolojik ve çevresel değişikliklerdir [10]. Milyonlarca yıllık evrim ve seleksiyon sürecinde canlı türleri, gece ve gündüz döngüsüne ve çevrelerindeki diğer ritmik dalgalanmalara uyum sağlamak için stratejiler geliştirdiler. Biyolojik ritimler, organizmayı çevresel değişikliklere yanıt vermeye hazırlayarak homeostazın korunmasını sağlamaktadır.

Sirkadiyen ritim; Dünyanın yaklaşık 24 saat süren kendi ekseni etrafında dönmesiyle meydana gelen davranışsal biyokimyasal ve fizyolojik ritimlerin bir gün içinde tekrarı olarak tanımlanır [11]. Uyku-uyanıklık döngülerini içeren serebral aktivite, metabolizma, enerji

homeostazı, kalp atış hızı, kan basıncı, vücut ısısı, böbrek aktivitesi, sitokin ve hormon salgılanması sirkadiyen bir ritim etkisi altındadır [12]. Sirkadiyen ritim ışık, melatonin, sıcaklık, jet lag, vardiyalı çalışma, beslenme ve sosyal jet lag gibi faktörlerden etkilenmektedir [13-23].

Modern yaşam, insanlarda vardiyalı/gece çalışma, fazla mesai, gece yeme, uyku bölünmesi ve yoksunlukları gibi aktivitelerde artışa neden olur. Hayat düzenimizdeki bu değişiklikler uyku bozuklukları, konsantrasyon güçlüğü, sinirlilik, depresyon, yorgunluk, oryantasyon bozukluğu, iştahsızlık ve gastrointestinal rahatsızlık gibi durumlarda artışa neden olduğu bildirilmiştir [19, 24].

Sirkadiyen ritmin en önemli göstergeleri; vücut ısısı, melatonin, kortizol hormonu ve uyku-uyanma döngüsüdür [25, 26]. Serum, tükürük, idrar, beyin omurilik sıvısı gibi vücut sıvılarında sirkadiyen ritimle ilgili çalışmalar yapılmıştır [27, 28]. İnsan kanında yer alan kalsiyum, inorganik fosfat, demir, çinko konsantrasyonlarının ve çeşitli lökosit popülasyonlarının da sirkadiyen ritim gösterdiği bildirilmiştir [29, 30].

Tükürük, majör ve minör tükürük bezlerinden salgılanan sıvılara burun boşluğu, yutak ve ağız mukozasından gelen sıvıların eklenmesiyle oluşan berrak, hafif asidik bir ekzokrin salgıdır [31, 32]. Besin kalıntıları, bakteriler, dişeti oluğu sıvısı, kandan aktif ve pasif olarak geçen proteinler, eritrositler, epitel hücreleri, mukozal lezyonlar veya enfeksiyon varlığında artan lökositler de tükürük içeriğine katkıda bulunur [33, 34]. Tükürük oral fonksiyonların gerçekleştirilmesinde, sert ve yumuşak dokuların bütünlüğünün korunmasında ve uygun bir ekolojik denge oluşturmak için önemli bir koruyucu faktördür [34, 35]. Tükürük salgılanmasında uyarım olup olmamasına göre uyarılmış ve uyarılmamış tükürük olarak iki şekilde sınıflandırılır. Uyarılmamış tükürük, çiğneme ve tatma gibi bir dış etken ve farmakolojik etkiler gibi bir uyarı olmaksızın doğal akışında biriken tükürük salgısıdır [32, 36]. Uyarılmış tükürük kompozisyonu, uyarılmamış tükürük kompozisyonundan farklıdır. Asidik yiyeceklerle uyarılmış olan tükürükte sodyum, klor ve bikarbonat konsantrasyonları artarken, potasyum ve fosfat konsantrasyonları azalmaktadır [32].

Tükürüğün akış hızı ve bazı bileşenleri sirkadiyen bir ritim göstermektedir. Tükürük akış hızı gündüzleri artarken geceleri azalmaktadır [37]. Potasyum konsantrasyonunun saat 12.00 civarında maksimum düzeyde olduğu, sodyum iyonlarının konsantrasyonun da gece

saatlerinde maksimum değerlere ulaştığı bildirilmiştir [38]. Geceleri pH değerleri azalırken, tükürük protein konsantrasyonlarının arttığı görülmektedir. Kortizol düzeylerinin sabah saatlerinde tavan değerlere ulaştığı görülürken, melatonin düzeylerinin öğle saatlerinde taban değerleri tespit edilmiştir [39-41].

Tükürük, oral ve sistemik sağlık durumunu yansıtan biyobelirteçleri içeren, invaziv olmayan metotlarla kolay ve hızlı örneklenebilen, saklaması kolay bir bilgi kaynağı olarak kabul edilir [42]. Periodontitis ile ilişkili tükürükte birçok biyobelirteç tespit edilmiştir [43-45]. Tükürük biyobelirteçleri; periodontal doku yıkımının erken tespiti, hastalık patogenezini, aktivitesini ve ilerlemesini takip etmek, tedaviye yanıtı izlemek veya gelecekteki hastalık ilerlemesine duyarlılık derecesini ölçmek için önemlidir [46-48]. IL-1β, TNF-α ve MMP-8 periodontal hastalıkların patogenezini incelemek için tükürükte sıklıkla incelenen biyobelirteçlerdendir [45, 49-51].

Tükürük içeriğindeki biyobelirteçler ile ilgili yapılan çalışmalarda tükürük numunelerinin toplanma saati ile ilgili genel bir konsensus olmadığı görülmektedir. Tükürük örneklerinde biyobelirteçlerin incelendiği çalışmaların bir kısmında örnekleme zamanı "sabah saat 10.00 civarı" olarak belirtilirken [45, 52-56], bir kısmında örnekleme zamanının sadece "günün belirli bir zamanı" olarak bildirildiği [43, 44, 57], pek çok literatürde ise örnekleme zamanına ilişkin bir bilgi verilmediği [58-62] görülmüştür. Bir çalışmada örneklerin aynı zaman aralığında elde edilmesinin çalışma içerisinde sirkadiyen ritmin etkisinin standardizasyonunu sağlayabildiği düşünülebilir. Tükürük akış hızı ve içerikleri sirkadiyen ritme bağlı olarak değişebildiği bilinmekle birlikte, sirkadiyen ritmin tükürük içeriğine olan etkisiyle ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Literatürde, farklı araştırmaların tükürük içeriği ile ilgili elde edilen sonuçları, birbiri ile karşılaştırılırken, sirkadiyen ritme ait olası etkinin bilinmediği ve göz ardı edildiği dikkat çekmektedir [46, 48, 63]. Konu ile ilgili literatürler tarandığında; sirkadiyen ritmin tükürük içeriğindeki IL-1β, TNF-α ve MMP-8 gibi enflamatuvar biyobelirteç seviyeleri üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Sirkadiyen ritmi takip etmek için sıklıkla kullanılan göstergelerden biri kortizol hormonu olduğu bilinmektedir [39, 64]. Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda 10.00, 12.00, 14.00, 16.00, 18.00 ve 22.00 olarak 6 farklı zaman diliminde periodontitisli ve sağlıklı bireylerden elde edilen uyarılmamış tükürük örneklerinde periodontal hastalıkların patogenezini incelenmesinde sıklıkla tercih edilen IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve kortizol biyobelirteç düzeylerinin değerlendirmesi, sirkadiyen ritimin biyobelirteçler üzerinde olası

etkilerinin incelenmesi amaçlandı. Çalışmamız, periodontitisli ve periodontal sağlıklı bireylerin tükürüğünde sirkadiyen ritmin etkilerini inceleyen ve karşılaştıran ilk çalışma olarak göze çarpmaktadır. Böylece gelecekte yapılan çalışmalarda örnekleme zamanının seçimi ile ilgili bir konsensus oluşmasına katkıda bulunmak ve farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmaların sonuçlarının daha sağlıklı karşılaştırılabilmesi için en doğru örnekleme zamanının seçilebilmesine ışık tutacak kanıtların elde edilmesi hedeflendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalıklar

Periodonsiyum dişi çevreleyen ve ona destek olan dişeti, periodontal ligament, alveol kemik ve sement oluşan yapıdır [65]. Periodontal hastalıklar, mikroorganizmaların neden olduğu ve diş kaybına yol açan periodonsuyumun etkilendiği ilerleyici ve yıkımla karakterize, toplumda yüksek oranda gözlenen kronik, multifaktöriyel ve enflamatuvar bir hastalıktır [1]. Periodontal hastalığın ortaya çıkabilmesi için belirli mikroorganizmaların ortamda bulunması ve bunlara cevap bir konak yanıtının olması gerekmektedir [66].

Periodontitis, periodontal yıkıma yol açan basit bir bakteriyel enfeksiyon olarak kabul edilemez. Periodontal hastalıklar lokal, sistemik, genetik, çevresel ve davranışsal risk faktörleri arasındaki etkileşimi içeren multifaktöriyel bir durumdur. Bu risk faktörleri, bireyin periodontal enfeksiyona verdiği yanıtta önemli bir rol oynar [2]. Lokal faktörler; dişler arası kontak kaybı, dişlerdeki anatomik varyasyonlar, oklüzal travmalar, ortodontik apareyler, parafonksiyonel alışkanlıklar ve hatalı restorasyonlar gibi bakteri plak retansiyonuna neden olan durumları sayılabilir [67, 68]. Kontrolsüz diyabet, obezite, osteoporoz, stres, sigara kullanımı, yetersiz kalsiyum ve D vitamini alımı, hamilelik gibi hormonal değişimler ve AIDS gibi sistemik hastalıklar periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde etkili olan sistemik faktörlerdir. Ayrıca sosyoekonomik durum, eğitim, yaş, cinsiyet ve genetik faktörler gibi risk elemanların rol oynadığı düşünülmektedir [2, 69, 70]. Yetersiz veya fazla uyku süresi, düşük uyku kalitesi ve vardiyalı çalışma gibi faktörlerin periodontal hastalıklar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [3].

Periodontal hastalık terimi genellikle dişlerin çevresinde oluşan biyofilm veya diş plağındaki patojenik mikrofloranın neden olduğu gingivitis ve periodontitisin yaygın enflamatuvar bozukluklarını ifade eder. Periodontal hastalığın en hafif şekli olan gingivitis oldukça yaygındır ve basit, etkili ağız hijyeni ile kolaylıkla geri döndürülebilir [71]. Gingivitis, dünya genelindeki yetişkinlerin %50-90'ını etkiler [72]. Periodontitis, gingivitisi takiben gelişen; diş destek dokularında ilerleyici ataşman ve kemik kaybına neden olan, periodontal cep oluşumu ve/veya dişeti çekilmesi ile karakterize enfeksiyöz bir hastalıktır. Şiddetli periodontitis; dişlerde mobiliteye, ağrı ve rahatsızlığa, çiğneme bozukluğuna ve sonunda diş kaybına neden olabilir [71]. Dünya çapında periodontitisin prevalansı, yetişkin bireylerde

%10-15 civarında iken, zayıf oral hijyene sahip ülkelerde bu oran artmaktadır [73]. Periodontitis sadece yetişkinlerde görülen bir hastalık değildir, çocuklarda ve ergenlerde de görülebilir. Periodontal doku yıkımının miktarı genellikle mikrobiyal diş plağı seviyeleri, konak savunması ve ilgili risk faktörleri ile orantılıdır [74].

2.1.1. Periodontal sınıflandırma

1999 Periodontal hastalık sınıflandırması

Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından 1999'da düzenlenen, periodontal hastalıkların sınıflandırılması için yapılan uluslararası çalıştayda, periodontal hastalıkların sınıflandırması şu şekilde yapılmıştır (Çizelge 2.1) [75]:

Çizelge 2.1. 1999 Periodontal hastalık sınıflandırması [75]

Dişeti Hastalıkları	• Plağa bağlı dişeti hastalıkları • Plağa bağlı olmayan dişeti hastalıkları
Kronik Peridontitis	• Lokalize • Generalize
Agresif Periodontitis	• Lokalize • Generalize
Sistemik Hastalıklarla Birlikte görülen Periodontitis	• Hematolojik bozukluklarla ilişkili • Genetik bozukluklarla ilişkili
Nekrotizan Periodontal Hastalıklar	• Nekrotizan ülseratif gingivitis • Nekrotizan ülseratif periodontitis
Apseler	• Gingival apse • Periodontal apse • Perikoronal apse
Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis	• Kombine periodontal- endodontik lezyonlar
Gelişimsel veya Kazanılmış Deformite ve Durumlar	• Plakla oluşan gingival hastalık veya periodontitisi hazırlayan lokalize-dişle ilişkili faktörler • Diş çevresindeki mukogingival deformite ve durumlar • Dişssiz bölgelerdeki mukogingival deformite ve durumlar • Oklüzal Travma

Gingivitis, diş yüzeyinde biriken mikrobiyal dental plağa karşı, konağın ilk savunma mekanizması olan enflamatuvar cevabı vermesi ile oluşan dişeti inflamasyonudur. İnflamasyonun klinik belirtileri ortaya çıkar. Dişeti, vasküler proliferasyona ve azalmış keratinizasyona bağlı olarak kırmızı veya mavimsi kırmızı bir renge dönüşür. Normal sıkı

kıvamında ve stipling yapısında kayıp izlenir. Dişeti konturu, ödem veya fibrozise bağlı bir büyüme gösterir. Dişeti oluğu sıvısında (DOS) ve ısısında artış gözlenir. Gingivitisin en erken bulgusu, periodontal sondlamada kanama olmasıdır. Bozulmamış periodonsiyuma sahip bir hasta %10 veya üzeri bir sondlama kanama skoruna sahip ise gingivitis olarak kabul edilir [76, 77].

Kronik periodontitis; dişetinde başlayan gingival inflamasyonun ilerleyerek alveolar kemik ve periodontal ataşman kaybına neden olduğu periodontal hastalık formu olarak tanımlanır [78]. Periodontitisin klinik bulguları, klinik ataşman ve kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve gingival inflamasyonu içerir. Bunlara ek olarak, dişeti çekilmesi/büyümesi, sondlamada kanama, hipermobilite, pü formasyonu ve patolojik migrasyon görülebilir. Periodontitis klinik olarak gingivitisten, ataşman kaybı varlığı ile ayrılır [78].

Kronik periodontitisin şiddeti ve ilerlemesi, risk faktörlerinin konak yanıtını etkilemesiyle artabilir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte hastalığın seyri ve periodontal dokulardaki kayıp daha şiddetli bir hal almaktadır [79]. Periodontitisten etkilenen bazı bölgeler uzun süre değişmeden kalırken bazı bölgelerde çok hızlı yıkım olabilir. Genellikle etkin plak kontrolünün yapılamadığı interproksimal alanlar başta olmak üzere furkasyon bölgeleri, malpoze dişler, uygun olmayan restorasyon kenarları olduğu bölgelerde kronik periodontitis daha hızlı ilerler [80].

Kronik periodontitis, periodontal doku yıkımının şiddetine göre, ataşman kaybı miktarı göre 3 gruba ayrılmıştır [81].

- Hafif şiddetli periodontitis: klinik ataşman kaybının 1-2 mm'yi geçmediği durumda,
- Orta şiddetli periodontitis: 3-4 mm arasında ataşman kaybı olması durumunda
- Şiddetli periodontitis: 5 mm ve daha fazla ataşman kaybı olması durumunda olarak sınıflandırılabilir.

Kronik periodontitis etkilediği diş sayısına göre lokalize ve generalize olmak üzere ikiye ayrılmıştır:

- Lokalize kronik periodontitis: Ağızdaki bölgelerin %30'dan azında ataşman kaybı olduğu durum olarak tanımlanır.

- Generalize kronik periodontitis: Ağızdaki bölgelerin %30'dan fazla alanda ataşman kaybı olduğu durum olarak tanımlanır [82].

Agresif periodontitis; herhangi bir sistemik hastalıkla ilişkili olmaksızın, hızlı gelişen periodontal ataşman ve kemik kaybı ile karakterize ailesel geçiş gösteren periodontal hastalıktır. Mikrobiyal dental plak ile yıkım arasında doğrusal bir ilişki yoktur. Etkilediği diş sayısına göre lokalize ve generalize formalara ayrılır. Lokalize agresif periodontitis, puberte döneminde başlar ve enfekte edici ajanlara karşı yüksek serum antikor yanıtı gözlenir. Birinci molarlar ve kesiciler dışında en fazla iki daimî dişte ataşman kaybı görülür. Generalize agresif periodontitis ise, sıklıkla 30 yaşın altındaki bireyleri etkilemesine rağmen, daha büyük yaşlarda da görülebilir. Patojenlere karşı zayıf serum antikor cevabı görülür. Birinci molarlar ve kesiciler dışında en az 3 dişte ataşman kaybı izlenir [75, 83].

2017 Periodontal hastalık sınıflandırması

2017 Kasım ayında Şikago'da Amerika Periodontoloji Akademisi ve Avrupa Periodontoloji Federasyonu ile dünyanın çeşitli yerlerinden gelen uzmanlar tarafından periodontal ve periimplant hastalık sınıflaması güncellenmiş ve geliştirilmiştir. Hastalıkların sınıflandırması, klinisyenlerin hastalığa doğru şekilde teşhis koyup, tedavi etmelerinin yanı sıra bilim insanlarının hastalık ve durumların etiyolojisini, patogenezini, doğal seyrini ve tedavisini araştırması için önemlidir [84].

2017 sınıflandırmasına göre periodontal hastalıklar ve durumlar; (1) periodontal sağlık ve gingival hastalıklar/durumlar, (2) periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar ve (3) periodontitis olarak üç gruba ayrılmıştır (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. 2017 Periodontal hastalık sınıflandırması

PERİODONTAL HASTALIKLAR VE DURUMLAR

- **Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar/Durumlar**
  - Periodontal ve gingival sağlık
  - Dental biyofilme bağlı gingivitis
  - Dental biyofilme bağlı olmayan gingival hastalıklar
- **Periodontitis**
  - Nekrotizan Periodontal hastalıklar
  - Sistemik Hastalıklara Bağlı Periodontitisler
  - Periodontitis
- **Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar**
  - Periodontal Destek Dokularını Etkileyen Sistemik Hastalıklar veya Durumlar
  - Periodontal Abseler ve Endodontik- Periodontal Lezyonlar
  - Mukogingival Durumlar ve Deformiteler
  - Travmatik Okluzal Kuvvetler
  - Diş ve Protezle İlişkili Faktörler

PERİ-İMPLANT HASTALIKLAR VE DURUMLAR

- **Peri-implant sağlığı**
- **Peri-implant mukozitis**
- **Peri-implantitis**
- **İmplant çevresinde sert ve yumuşak doku yetersizlikleri**

Periodontal ve gingival sağlık

Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre sağlık, sadece hastalık veya sakatlığın bulunmaması değil, fiziksel, zihinsel ve sosyal açıdan tam iyi olma durumudur. Bu tanıma göre periodontal sağlık; klinik değerlendirmede herhangi bir periodontal hastalığın bulunmaması veya geçmişte yaşanan bu durumlardan mental ve fiziksel olarak acı çekmediği, herhangi bir gingival inflamasyon belirtisi taşımayacak şekilde tedavi edilmesi demektir [85].

Sağlık hem histolojik hem de klinik olarak değerlendirilebilir. Hastalık başlamadan önce periodontal sağlık bulunabildiği gibi diğer taraftan desteği azalmış, periodonsiyumda da periodontal sağlık yeniden sağlanabilir. Bütünlüğü bozulmamış periodonsiyumda dişeti sağlığı; periodontal dokularda ataşman kaybının olmaması, 3 mm'den az sondlama cep derinliği, sondlamada kanama, dişetinde şişlik, kızarıklık ve ödem olmaması durumudur [85].

Periodonsiyumun normal ataşman ve kemik seviyesine mi yoksa azalmış desteğe mi sahip olduğunu anlama ve modifiye edici faktörleri ile göreceli tedavi sonuçlarını kontrol etme yeteneğinin bulunmasına göre 4 seviyeli periodontal sağlık durumu ileri sürüldü [85];

1. Bozulmamış periodontal sağlık: Ataşman ve kemik kaybının olmadığı normal destekli periodonsiyum. Klinik inflamasyon ve fizyolojik immün yanıtın tamamen olmadığı durum.
2. Klinik periodontal sağlık: Normal desteğe sahip bir periodonsiyumda klinik inflamasyonun yokluğu veya minimum seviyede olması.
3. Desteği azalmış, periodonsiyumda periodontal hastalık stabilitesi
4. Desteği azalmış, periodonsiyumda periodontal hastalık remisyonu/kontrolü.

Periodontal hastalık stabilite, değiştirilebilir risk faktörlerinin kontrolü ile birlikte minimal inflamasyon ve optimal terapötik yanıt ile karakterizedir. Modifiye edici ve predispozan faktörleri tam olarak kontrol altına alınamayan hastalar için remisyon/kontrol, inflamasyonda önemli bir azalma, diğer klinik parametrelerde bir miktar iyileşme ve hastalık progresyonunun stabilizasyonu ile karakterizedir. Periodontitis tedavisi ya periodontal hastalık stabilitesi ya da periodontal hastalık remisyonu/kontrolü ile sonuçlanması beklenir (Çizelge 2.3) [85].

Çizelge 2.3. Plak ile ilişkili periodontal hastalıklar için periodontal sağlığın değerlendirmesi [85]

	Bütünlüğü bozulmamış periodontal sağlık	**Klinik periodontal sağlık**	**Gingivitis**	**Periodontitis (Azalmış periodonsiyum)**	
				Periodontal hastalık stabilitesi	**Periodontal hastalık remisyonu/ kontrolü**
Sondlamada kanama	Yok	Yok/minimal	Var	Yok/ minimal	Önemli derecede azalmış
Normal gingival sulkus derinliği	Var	Var	Var	Yok	Yok
Normal kemik yükseklikleri	Var	Var	Var	Yok	Yok
Modifiye edici faktörler	Kontrol altında	Kontrol altında	Olabilir	Kontrol altında	Tamamen kontrol altında değil
Predispozan faktörler	Kontrol altında	Kontrol altında	Olabilir	Kontrol altında	Tamamen kontrol altında değil

Periodontitis

Periodontitis; mikrobiyal enfeksiyon kaynaklı, konak aracılı inflamasyon sonucu meydana gelen periodontal ataşman kaybı ile karakterize bir hastalıktır. Toplumlarda oldukça yaygın görülebilen periodontitis, dünya nüfusunun oldukça büyük bir kısmını etkileyebilmektir ve yetişkinlerde diş kaybının en büyük sebebidir [71].

2017 Dünya Çalıştayı'nda belirtilen güncel sınıflamada ise periodontitis teşhisi için; birbirine komşu olmayan komşu olmayan 2 veya daha fazla dişte tespit edilebilen interdental klinik ataşman kaybı varlığı ya da yine en az 2 dişin oral ya da bukkal yüzeylerinde ≥3mm sondlanabilir cep derinliği ile birlikte gözlenebilen ≥3 mm klinik ataşman kaybı bulunması gerekmektedir. Değerlendirme yapılırken travmatik kaynaklı dişeti çekilmesi, servikal bölgeye uzanan diş çürüğü, üçüncü büyükazı dişlerin malpozisyonuna bağlı olarak gelişen ikinci büyükazıların distalindeki klinik ataşman kaybı, marjinal periodonsiyumdan drene olan endodontik lezyonlar ve vertikal kök faktörlerine bağlı oluşan klinik ataşman kayıpları göz önünde bulundurulmamalıdır [86, 87].

2017' de Amerika Periodontoloji Akademisi ve Avrupa Periodontoloji Federasyonu'nun periodontitis sınıflamasında agresif ve kronik periodontitis yerine; derece ve evreler getirilmiştir. Periodontitis teşhis edilmesiyle çok boyutlu bir evreleme ve derecelendirme sistemi ile hastalığın ayırıcı özellikleri ortaya konulmaktadır.

Evreleme (Stage)

Evrelemenin amacı, periodontitisten etkilenmiş dokuların klinik ve radyolojik olarak ölçülebilir durumuna göre hastalığın şiddetine, karmaşıklığına ve yayılımına karar vermektir. Hafiften şiddetliye doğru uzanan dört kategoriden (Evre I-IV) oluşmaktadır. Şiddeti; interdental klinik ataşman kaybı, radyografik olarak tespit edilen alveolar kemik kaybı ve diş kaybı sayısı belirlerken, kompleksiteyi ise; cep derinliği, mobilite, furkasyon tutulumu varlığı, horizontal-vertikal kemik yıkımı, okluzal travma gibi tedavi planında ve takibinde dikkate alınması gereken faktörler oluşturur. Hastalık yayılımıysa her evre için lokalize (dişlerin <%30'u), generalize (dişlerin>%30'u) ve molar-keser tutulumu olarak belirtilir (Çizelge 2.4) [87].

Çizelge 2.4. Periodontitis evreleri

EVRE (STAGE)		EVRE I	EVRE II	EVRE III	EVRE IV
Şiddet	İnterdental Klinik Ataşman Kaybı	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radyografik kemik kaybı	Koronal 1/3	Koronal 1/3	Orta veya apikal 1/3	
	Diş kaybı	Periodontal kaynaklı diş kaybı yok.		Periodontal kaynaklı ≤4 diş kaybı	Periodontal kaynaklı ≥5 diş kaybı
Komplekslilik	Lokal	Sondlama derinliği ≤4 mm Genellikle horizontal kemik kaybı	Sondlama derinliği ≤ 5 mm Genellikle horizontal kemik kaybı	Evre II'ye ek olarak Sondalama derinliği ≥6mm Vertikal kemik kaybı ≥3 mm Sınıf II –III furkasyon defektleri Orta kret defekti	Evre III'e ek olarak Çiğneme disfonksiyonu Sekonder oklüzal travma (diş mobiltesi≥2) Şiddetli alveol kret kaybı Bite kollaps, drifting, flaring Dikey boyut azalmış 20'den az diş (10 karşılıklı dişten az)
Yaygınlık	Tanımlayıcı	Lokalize (≤%30 diş), Generalize, Molar- Keser Bölge			

Derecelendirme (Grade)

Periodontitisin ilerleme oranının geçmişe yönelik analizine dayanır ve hastalığın biyolojik özellikleri hakkında ek bilgi sağlamaktadır. Hastalığın ilerlemesi ve periodontal tedaviden beklenen sonuçların değerlendirilmesi açısından etkili olabilecek risk ve prognostik faktörlerin durumunu belirler. Bu derecelendirmeyle hastanın tedavi ve takip programının planlanabilmesi amaçlanmaktadır. Derece A yavaş ilerleyen, Derece B orta hızla ilerleyen, Derece C hızlı ilerleyen olmak üzere üç kategoriden oluşmaktadır (Çizelge 2.5) [87].

Derece belirlenirken ilk olarak 5 yıl içerisindeki klinik ataşman kaybı veya radyografik kemik kaybı göz önünde bulundurularak yapılmalıdır. Bu veri mevcut değilse, ilerlemenin

dolaylı kanıtı olan kemik kaybı yüzdesi/ yaş oranı ve vaka fenotipi gibi bilgilerden yararlanılır. Ayrıca sigara kullanımı ve diyabet risk faktörü olarak yer almaktadır [87].

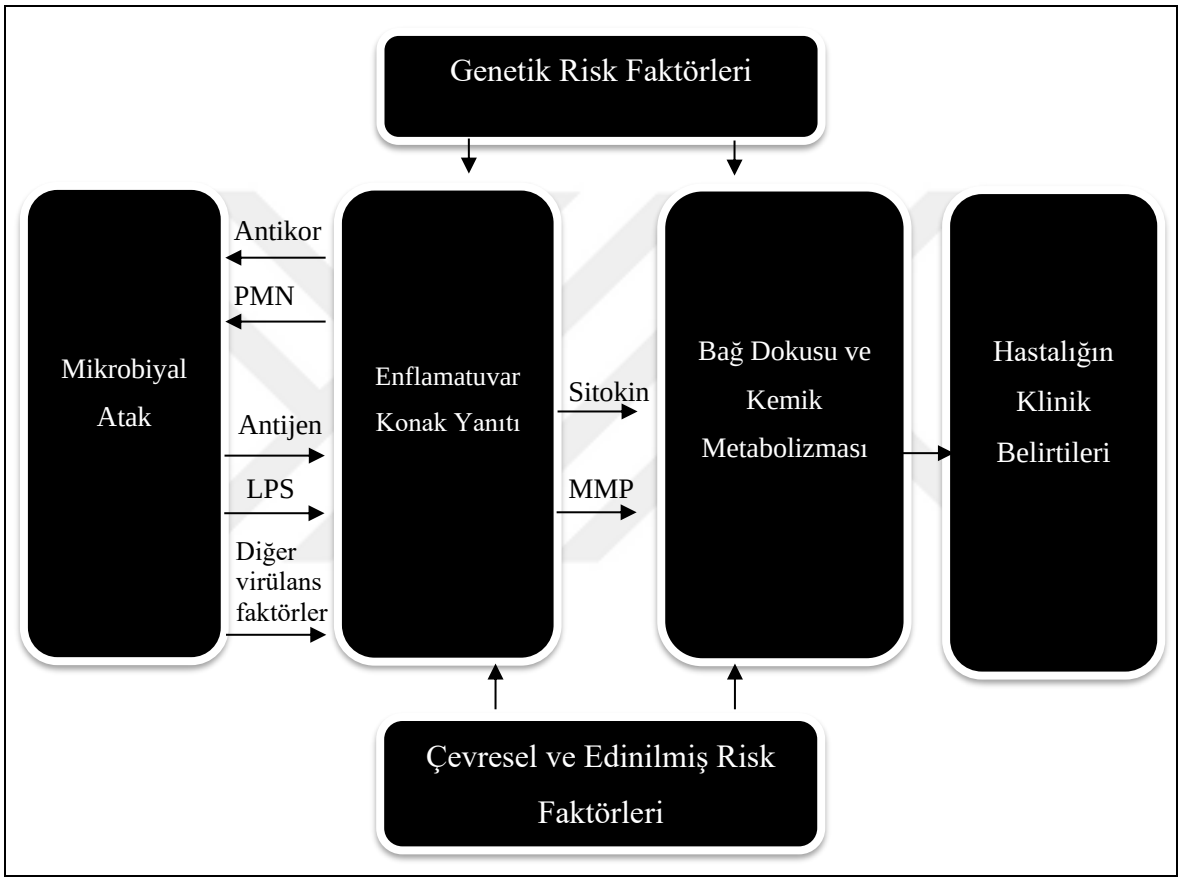
Çizelge 2.5. Periodontitis dereceleri

DERECE (GRADE)			**Derece A: Yavaş ilerleme**	**Derece B: Orta hızla ilerleme**	**Derece C: Hızlı ilerleme**
Birincil Kriterler	İlerlemenin doğrudan kanıtları	Veri Analizi (Radyografik kemik kaybı veya KAK)	5 yıl sonunda bir kayıp yok	5 yıl sonunda < 2 mm kayıp	5 yıl sonunda ≥ 2 mm kayıp
	İlerlemenin dolaylı kanıtları	Kemik kaybı yüzdesi / yaş	<0.25	0.25 –1.0	> 1.0
		Vaka fenotipi	Düşük seviyeli yıkıma sebep olan ağır biyofilm	Biyofilm miktarı ile orantılı yıkım	Biyofilm miktarına göre abartılı yıkım. Hızlı ilerleyen ve erken başlangıçlı spesifik hastalık dönemlerini düşündüren modeller (örn. molar-insizal bölge)
Dereceyi Modifiye Eden Faktörler	Risk faktörleri	Sigara	Sigara içmiyor	Günde <10 adet içiyor.	Günde ≥10 adet içiyor
		Diyabet	Normal	HbA1c <7.0 olan diyabetli hasta	HbA1c ≥7.0 olan diyabetli hasta

2.1.2. Periodontal hastalık patogenezi

Periodontal hastalıkların ana etkeni olan mikrobiyal dental plağın, hastalığa sahip bireylerin hepsinde görünmesine karşın, bireylerin hastalık şiddetlerinin farklı olduğu gözlenmektedir. Periodontal hastalık sürecindeki yıkımın patojen bakterilerin yıkım ürünleri ile bu ürünlere karşı konak cevabından kaynaklandığı düşünülmektedir. Periodontitis, gingivitisin periodontal dokularda yıkım oluşturacak şekilde ilerlemesiyle başlayabilir, ancak bu her gingivitisin periodontitise dönüşeceği anlamına gelmez [4, 5].

Periodontal hastalık etiyopatogenezini etkileyen faktörler arasında yer alan konak cevabı, lokal, sistemik ve çevresel risk faktörleriyle değişebilmektedir. Lokal, sistemik ve çevresel risk faktöreler, hastalığın oluşması ve klinik şiddeti konusunda belirleyici rol oynamakta ve mikrobiyal dental plağa karşı gelişen konak cevabını direkt olarak etkilemektedir. Periodontal hastalıklardaki bu farklılıkları doğru yorumlayabilmek için patogenezi iyi anlamak gerekir (Şekil 2.1) [2, 5, 88].



Şekil 2.1. Periodontal hastalığın patogenezi [88]

Periodontal hastalıkların periodontal sağlıktan periodontitise ilerleyiş süreci, histopatolojik özelliklerine göre başlangıç lezyonu, erken lezyon, yerleşmiş lezyon ve ilerlemiş lezyon olarak 4 safhada tanımlanmıştır [89].

Başlangıç lezyonu

Sağlıklı periodontal dokularda plak birikiminin 2. ve 4. günler arasında gözlenen, kemotaktik ve antijenik uyaranlara karşı oluşan bir cevaptır. Lezyon dişeti sulkus bölgesinde lokalize olmakla birlikte birleşim epitelini ve bağ dokusunun en koronal kısmını

etkilemektedir. Plak oluşumunu takiben ilk organize olan bakteri türü streptokoklardır. Kapiller damarlarda belirgin bir genişleme ve vasküler geçirgenlikte bir artış gözlenir. Subklinik ödem artışı, bölgeye polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) göçü ve bağ dokusu yıkımının başlaması ile karakterize bir lezyondur. Klinik bulgu göstermez, dokulardaki değişiklikler sadece histolojik olarak gözlenebilir [89].

Erken lezyon

Plak akümülasyonunun başlamasından 4-7 gün sonra gözlenen erken gingivitis lezyonudur. İlk kez sondlamada kanama gibi klinik bulgular bu evrede görülür. Vasküler değişiklikler daha belirgin bir hal alır. Dişetinde vazodilatasyon ve kapiller damar sayısındaki artış nedeniyle eritem ve ödem gözlenir. Vasküler geçirgenliğin artmasıyla enflamatuvar mediyatörlerin yoğun bulunduğu dişeti oluğu sıvısı (DOS) miktarında artış olmuştur. Bu evrede histolojik olarak en yaygın bulunan hücre lenfositlerdir [89, 90].

Yerleşik lezyon

Plak akümülasyonunu takiben 2-3 hafta içinde gelişir. Dişetindeki hemoraji, renk, kontur değişiklikleriyle birlikte klinik olarak da gözlenebilen gingivitis semptomlarına dönüşmüştür. Akut inflamasyonun tedavi edilemediği ve bu nedenle inflamasyonun kronik hale döndüğü evredir. Bu evrede baskın olan hücre tipi plazma hücreleridir. Bağ dokusunda kollajen yıkımın artmasına karşın fibroblast hücreleri tarafından kollajen senteztezlendiği gözlemlenmektedir. Kemik ve ataşman kaybı yoktur. Sulkus epiteli bu evrede cep epiteline dönüşmüştür. Yerleşik lezyon, ilerlemiş lezyona dönüşmeden yıllarca stabil kalabilir [8, 89].

İlerlemiş lezyon

Yıkıcı faz olarak da aklandırılan bu lezyon gingivitisten periodontitise ilerleyişi gösterir. Bağlantı epitelinin apikale göçüyle bağ dokusu, alveolar kemik ve periodontal ligament liflerinde yıkım meydana gelir. Buna bağlı olarak periodontal cepte ve mobilitede artış gözlenir. Bu periodontal cep artışı patojen bakterilerin konaklaması için uygun bir ortam oluşturur. Yerleşik lezyonda da baskın tip olan plazma hücreleri ve enflamatuvar hücre kompozisyonu bu evrede daha da artmıştır. Klinik ve histolojik olarak ataşman ve alveolar kemik kaybı ile karakterizedir. Gingivitisin şiddetlenip periodontitise doğru ilerlemesiyle T

hücrelerinin yüzdesinin azaldığı, B hücrelerinin ve plazma hücrelerinin yüzdesinin arttığı gösterilmiştir [89, 91].

2.1.3. Periodontal hastalıklarla ilişkili biyobelirteçler

Sitokinler, bağışıklık tepkilerini düzenleyen ve belirleyen aynı zamanda hücreler arası karmaşık iletişim ağının yapılandırılması ve sürdürülmesinden sorumlu düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir [8]. Sitokinler çok düşük konsantrasyonlarda bile etkilidirler [48, 92]. Sitokinler; epitel hücreleri, fibroblastlar, fagositler (nötrofiller ve makrofajlar), immün (lenfositler) hücreler tarafından üretilir [93]. Sitokin genel kavramdır; lenfosit kaynaklı sitokinler lenfokin, monosit kaynaklı sitokinler monokin, kemotaktik aktiviteye sahip sitokinler kemokin ve lökosit kaynaklı ve diğer lökositler üzerinde etkili olan sitokinlerse interlökin olarak isimlendirilebilir [92]. Sitokinler salgılandıkları hücrelere (otokrin etki), yakın çevredeki hücrelere (parakrin etki) ve dolaşıma katılarak uzaktaki hücrelere (endokrin etki) etki edebilir. Sitokinler enflamatuvar özelliklerine göre antienflamatuvar ve proenflamatuvar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. IL-1β, TNF-α, IL-6, IL-8 gibi sitokinler enflamatuvar yanıtı arttırır ve proenflamatuvar sitokinler olarak isimlendirilir. IL-4, IL-10, IL-13 gibi antienflamatuvar sitokinlerse enflamatuvar yanıtı azaltır [94].

Periodontal hastalıklarda, bakteriyel ürünlerin tanınması ve uygun hücrelere sunulmasıyla, periodontal cep ve birleşim epiteli içinde en fazla bulunan polimorfonükleer lökositler, savunmadaki ilk konak cevabını oluştururlar [95]. Periodontal hastalıkta nötrofil, makrofaj, monosit, lenfositlerde artış gözlenmektedir [96]. Monositler ve aktive edilmiş makrofajlar bakteriyel ürünlere karşı IL-1, IL-6 ve TNF-α gibi periodontal hastalık patogenezinde ilk ortaya çıkan sitokinleri salarak yanıt verir [6, 7]. IL-1β ve IL-6 karakteristik olarak enflamatuvar hücre migrasyonu ve osteoklastogenez ile ilişkilendirilmiştir [9, 97]. TNF-α, hücre migrasyonu ve ELAM-1, ICAM-1 gibi adezyon moleküllerinde artışa neden olduğu bildirilmiştir. TNF-α aynı zamanda enfekte ve iltihaplı bölgelere hücre migrasyonu ile ilgili kemokinlerin üretimini de uyarmaktadır [94]. TNF-α ve IL-1, MMP'lerin ve RANKL'ın salgılanmasını uyarır ve durum ekstraselüler matriksin ve alveolar kemiğin yıkımına neden olur [9]. Fibroblast ve PMN'ler tarafından salınan MMP, güçlü kollajen yıkım enzimleridir. Sitokinler tükürük, dişeti oluğu sıvısı, beyin omurilik sıvısı, serum, plazma, sinoviyal sıvı ve idrar gibi vücut sıvılarında tespit edilmiştir [43, 98-101]. Bu sitokinlerin ve enzimlerin

periodontal dokularda inflamasyon ve yıkıma neden olması periodontal hastalıkların teşhis ve takibinde biyobelirteç olarak kullanılmasını sağlamıştır [102].

Periodontitis çoğunlukla cep derinliği, klinik ataşman seviyesi, sondlamada kanama, plak indeksi kayıtları ve radyografik bulgular dahil olmak üzere bir dizi klinik ölçüm temelinde teşhis edilmektedir. Bununla birlikte, yapılan cep derinliği ve klinik ataşman kaybı ölçümleri ile radyografik incelemeler, bize geçmiş periodontal doku yıkımı hakkında bilgi sağlamaktadır. Bu analizler, hastalık aktivitesinin mevcut durumu ve prognozu hakkında bizi tam olarak aydınlatamamaktadır [103]. Buna göre, aktif hastalık durumunun erken saptanması ve periodontal tedaviye yanıtın izlenmesi için güvenilir, yenilikçi, basit ve invaziv olmayan teşhis yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir [104].

Periodontitisin biyobelirteçleri üzerine yapılan araştırmaların başlıca üç hedefi vardır: (1) periodontal doku yıkımı meydana gelmeden önce risk altındaki hastaları belirlemek; (2) hastalık aktivitesini ve ilerlemesini belirlemek; (3) ve yeni terapötik hedefler bulmak amacıyla bu karmaşık hastalığa ilişkin anlayışımızı geliştirmek [48].

DOS ve tükürüğün yanı sıra kan dolaşımındaki moleküller, periodontal doku yıkımı için hassas ve spesifik bir belirteç sağlamak amacıyla araştırılması önem kazanmıştır. Hem bölgesel hem de vücutta birçok bölgede sentezlenebilen moleküllerden oluşan DOS ve tükürük invaziv olmaması ve hastaya en az rahatsızlık verecek şekilde kolayca elde edilebilmeleri nedeniyle hastalıkların teşhis ve takibinde sıkça kullanılmaktadır. Bu nedenle, oral sıvılardaki spesifik proteinlerin veya belirteçlerin immünolojik veya biyokimyasal yöntemlerle değerlendirilmesi, periodontal mikro çevrede meydana gelen olaylar hakkında bize bilgi sağlamaktadır [105].

2.2. Biyolojik Ritim

Biyolojik ritim, dünyanın kendi ekseni ve güneş etrafında dönmesiyle organizmalarda oluşan periyodik genetik, moleküler, fizyolojik ve çevresel değişikliklerdir [10]. Biyolojik ritimler döngü süreleri göz önüne alındığında ultradiyen, sirkadiyen, infradiyen ve sirkannual gibi alt gruplara ayrılmaktadır.

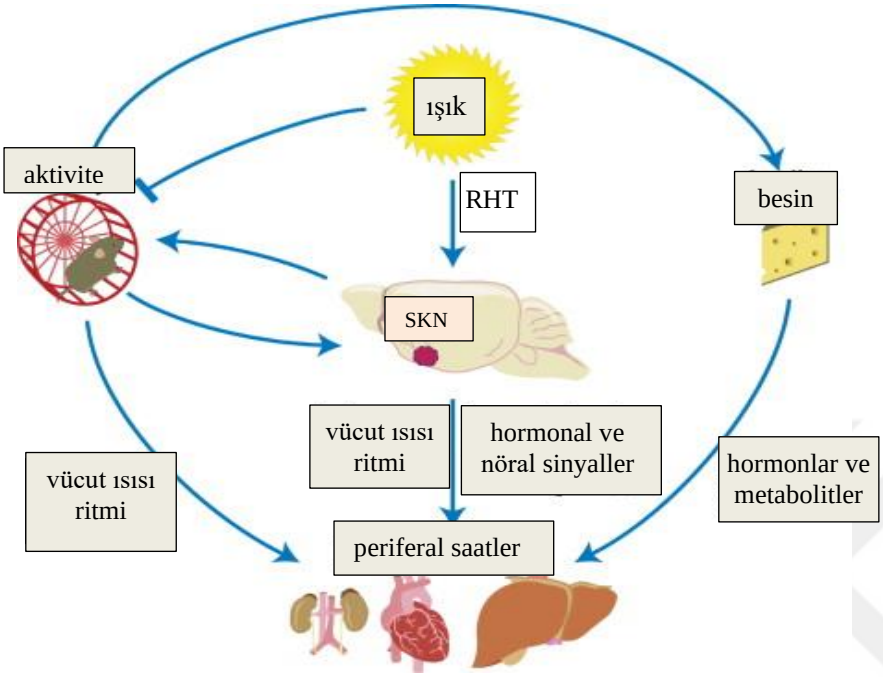
- Ultradiyen ritimler: Bir günde birden fazla döngüsü olan ritimlerdir (periyot <20 saat). Elektroensefalogram ve elektrokardiyogram, nabız, solunum hızı, REM/non-REM (rapid eye movement/non-rapid eye movement) uyku dönemleri ultradiyen ritimler arasındadır.
- Sirkadiyen ritimler: Yaklaşık bir gün süren ritimlerdir. İnsanların en belirgin sirkadiyen ritmi uyku ve uyanıklık döngüsüdür. Vücut ısı dalgalanmaları, kan basıncı, bazı hormonların salınımlar sirkadiyen bir ritim izler.
- İnfradiyen ritimler: Döngü süresi haftalar veya aylar süren ritimlerdir. Kadınlardaki menstrual döngü örnek verilebilir.
- Sirkannual ritimler: Yaklaşık bir yılık ritimlerdir. İnsan ve memeli hayvan doğumları, hayvanların göç ve kış uyku döngüleri bu başlık altında değerlendirilir [106-108].

Milyonlarca yıllık evrim ve seleksiyon sürecinde canlı türleri, gece ve gündüz döngüsüne ve çevrelerindeki diğer ritmik dalgalanmalara uyum sağlamak için stratejiler geliştirdiler. Biyolojik saatler, organizmayı çevresel değişikliklere yanıt vermeye hazırlayarak homeostazın korunmasını sağlamaktadır. Biyolojik saatler, bitkilerde besin sentezlerini sağlamak veya ultraviyole ışınlarının zararlı etkisine karşı korunmak için ışığa tepkilerin optimal olması gereken zamanları belirlemeye yardımcı olur [109]. Memelilerde mevsimsel olarak değişen ortama tepki olarak meydana gelen nöral değişikliklerin ve adaptasyonların ana bir zamanlayıcı tarafından yönetildiği bildirilmiştir. Bu nöral değişikliklerin ve adaptasyonların mevsimsel dalgalanmalar tarafından sıfırlandığına dair güçlü kanıtlar vardır [110].

2.2.1. Sirkadiyen ritim

Sirkadiyen ritim; Dünyanın yaklaşık 24 saat süren kendi ekseni etrafında dönmesiyle meydana gelen davranışsal biyokimyasal ve fizyolojik ritimlerin bir gün içinde tekrarı olarak tanımlanır [11]. Kısaca sirkadiyen ritim (Latince karşılığı circa=yaklaşık, dies=bir gün) yaklaşık bir gün süren ritimlerdir [111]. Sirkadiyen ritimleri inceleyen bilim dalına kronobiyoloji denir. 24 saatte tamamlanan zamanlama sisteminin yanı sıra dünyanın dönüşü, gece-gündüz geçişleri, gelgitler, jeomanyetik etkiler, beslenme ve sosyal etkileşimlerden etkilenir [112]. Sabit koşullar altında sirkadiyen ritim 24 saatten daha uzun olduğu düşünülmektedir [113]. İnsanlarda ve diğer memelilerde sirkadiyen ritim, uyku/uyanıklık,

beslenme, vücut ısısı, hormon salgılanması ve metabolizma gibi birçok önemli davranışı ve fizyolojik süreci yönetir (Şekil 2.2) [24].



Şekil 2.2. Merkezi ve periferal saat ilişkisi [114]

Zamanla meydana gelen biyolojik ritim değişimleri açısından canlılar nokturnal ve diurnal canlılar olmak üzere ikiye ayrılır. Koku alma ve işitme duyularını çevreyi algılamak için ana duyular olarak kullanan yarasa gibi memeliler nokturnal canlılarken, ana duyuları olarak görmeyi kullanan memelilerse diurnal canlılardır [115]. Gündüz yaşama özelliği olan (diurnal) insan; beslenme, egzersiz yapmak, çalışma gibi çoğu aktiviteyi gün içinde gerçekleştirmekte ve geceleri de dinlenmektedir. İnsan vücudundaki sirkadiyen saatler, aktiviteler için zaman ipuçları sağlar ve metabolik reaksiyonlar ile planlanan aktiviteleri senkronize eder. Davranışların ve metabolizmanın saate göre senkronizasyonu, enerji alımını sağlar ve iç homeostazı sürdürür. Bu hassas sistem modern yaşamın gelişmesiyle birlikte bir değişime uğramaktadır. Modern yaşam, insanlarda vardiyalı/gece çalışma, fazla mesai, gece yeme, uyku bölünmesi ve yoksunlukları gibi aktivitelerde artışa neden olur. İç ritmimizdeki bu değişiklikler uyku bozuklukları, konsantrasyon güçlüğü, sinirlilik, depresyon, yorgunluk, oryantasyon bozukluğu, iştahsızlık ve gastrointestinal rahatsızlık gibi durumlarda artışa neden olur [19, 24].

Memelilerde sirkadiyen ritmi oluşturan zamanlayıcılar iki bölümden oluşur: (1) hipotalamusun suprakiazmatik nükleusunda (SKN) bulunan merkezi bir saat ve (2) karaciğer, gastrointestinal sistem, iskelet kası, yağ dokusu ve pankreas dahil olmak üzere vücudun hemen hemen tüm diğer dokularında bulunan bir dizi periferik saat [25].

Memelilerde ritmin bu belirli sürelerde başlama-sonlanma periodunda rol alan, sirkadiyen davranış ritimlerinin oluşumu için ana zamanlayıcı suprakiazmatik nükleustur. SKN, hipotalamusun ön kısmında, optik sinir gövde hattında, her iki hemisferde, orta hattın sol ve sağ tarafında bulunur ve [109, 116]. SKN 10–15.000 nöron içerir [117].

SKN, zaman iletim sinyali değerlendirilerek senkronize edilir ve SKN'nin en önemli zamanlayıcısı (zeitgeber) ışıktır [109]. Işık sinyali, retinadaki belirli ganglion hücrelerinden alınır ve retina hipotalamik yol yoluyla SKN'ye getirilir ve burada yorumlanır [109]. Merkezi saat, bu verileri nöronal ve hormanal sinyallerle doku ve organlardaki periferik saatlere ileterek, sirkadiyen fizyolojiyi ve davranışı etkilemektedir [111]. Sirkadiyen ritmin bozulması obezite, diyabet, kanser, astım, alerjik rinit, anjina, miyokard enfarktüsü, inme, serebral hemoraji, hipertansiyon, artrit, ülser, epilepsi gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasında etkisi vardır [24, 107].

İnsan gibi karmaşık bir canlının tek başına merkezi bir saatle kontrol edilemeyeceği düşüncesinden hareketle yapılan araştırmalarda karaciğer, pankreas, iskelet kası, bağırsak ve yağ dokusu gibi periferik dokularda da periferal saatlerin mevcut olduğu ortaya çıkarılmıştır [111, 118]. Bazı periferal saatler kendi döngülerini belirleyebilse de genellikle SKN sinyallerine göre çalışırlar. Ana saatin ritmi esas olarak ışık tarafından belirlenirken periferik saatlerdeki ritimler SKN'den gelen sinyaller, ışık, fiziksel aktivite, beslenme ve uyku gibi dış faktörler ve metabolitlerin entegre edilmesiyle oluşur [119]. SKN tarafından kontrol edilen vücut ısısı ritimleri de periferal saatlerin senkronizasyonuna katkıda bulunabilir [114].

2.2.2. Sirkadiyen ritmi etkileyen faktörler

- Işık; Sirkadiyen ritmi düzenleyen en önemli faktör olan ışık, retina hücrelerinden retina hipotalamik yoluyla SKN'ye ulaştığında, SKN diğer periferik saatlere sinyal göndererek günlük ritmi senkronize eder [114]. Görme engelli bireylerde, oküler ışığın retinadan SKN'ye iletimi kesintiye uğrayabilir ve buna bağlı olarak 24 saatlik gündüz/gece

senkronizasyonu bozulabilir. Bu bozulmayla gündüz uyku hali, kötü gece uykusu ve atiklikte azalma görülür. Günlük ekzojen melatonin uygulamasıyla bu durum tedavi edilebilir [13].

- Melatonin; Memelilerde pineal bezinden salgılanan melatonin bir kronobiyotik olarak işlev görür ve sirkadiyen ritimde iç homeostazini düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Melatonin salınımı SKN tarafından kontrol edilir [120]. Geceleri sekresyonu artan bu hormon uyku düzenimizi kontrol edip dinlenmemizi ve dinç olmamızı sağlar. Havalar aydınlandıkça melatonin salınımı azalır ve serotonin salınımı artar. Tekrar karardığında serotonin melatonine dönüşür ve uyku döngüsü bu şekilde devam eder [14, 15].
- Sıcaklık; Sıcaklık çoğu organizma için güçlü bir uyarıcı olsa da, memelilerde dış sıcaklıktaki değişiklikler zayıf bir uyarıcıdır [16]. Bununla birlikte; periferik ritimler (fibroblastlar, karaciğer, böbrek ve akciğer dahil) SKN'ye göre sıcaklık değişikliklerine karşı oldukça hassastır [17, 18].
- Jet Lag; Farklı saat dilimleri arası uçuşlarda, başlangıç ile varış noktası arasındaki aydınlık/karanlık döngüsü uyumsuzluğunun neden olduğu semptomlardır. Bu kişilerde görülen semptomlar arasında uyku bozuklukları, konsantrasyon güçlükleri, sinirlilik, depresyon, oryantasyon bozukluğu, çarpık zaman, mekân ve mesafe tahmini, baş dönmesi, iştahsızlık ve mide-bağırsak rahatsızlıkları yer alır. Doğuya doğru yapılan seyahatlerde ve yaşlılarda daha fazla rahatsızlıklar görülür. Semptomlar genellikle uçuştan hemen sonraki 48 saat içinde ortaya çıkar ve ne kadar çok zaman dilimi geçilirse iyileşme süresi o kadar uzun sürer [19, 20].
- Vardiya Değişim Durumu; Standart çalışma koşullarını aşan çalışma yöntemlerini ifade eder. Vardiyalı çalışma; düzenli akşam veya gece programları, dönüşümlü vardiyalar, bölünmüş vardiyalar (günde birden fazla vardiya), nöbetçi veya geçici vardiyalar, 24 saatlik vardiyalar, düzensiz programlar ve diğer gündüz olmayan programları içerir [121]. Kişi kendi ritmine göre dinlenmesi gereken saatlerde aktiftir ve bu süreç sirkadiyen ritmin bozulmasına neden olur [21]. Vardiyalı çalışmanın obezite/kilo alımı, tip 2 diyabet, koroner kalp hastalığı ve çeşitli kanser türleri için artan risk ile ilişkili olduğu bulunmuştur [122].
- Beslenme; Periferik sirkadiyen saatleri sıfırlar. Sirkadiyen sistem, gıda alımı, yağ birikimi ve kalori harcaması dahil olmak üzere tüm enerji homeostazını düzenlediğinden, sirkadiyen saatlerin bozulması metabolik bozukluklara yol açar. Besin tüketiminin belirli zaman aralıklarıyla sınırlandırıldığı ancak kalori kısıtlamasının

yapılmadığı beslenme şekli olan zaman kısıtlı beslenme ve dengeli beslenme periferik dokulardaki sirkadiyen saatleri güçlendirirken düzensiz zamanlarda veya yüksek yağlı bir diyetle beslenmek bu saatleri zayıflatır. Beslenme için sadece kalite ve miktar değil, zamanlama da önemlidir [22] .

- Sosyal Jet lag; İş ve tatil günleri arasında uyku süreleri büyük farklılıklar gösterir. Uykuya dalmanın sadece gece geç saatlerde meydana geldiği ve sabah erken uyanmanın çok zorlaştığı bir durumdur. Bu kişiler hafta içi yeterince uyumadıkları için hafta sonları daha fazla uyurlar. Şiddetli sosyal jet lag sigara, kafein, alkol tüketimi ve depresyona zemin hazırlayabilir. Daha düşük uyku kalitesi ve gündüz yorgunluğuna zemin hazırlamaktadır. Çalışma ve izin günlerinde aynı saatlerde uyuyup uyanan kişilerde sosyal jet lag minimum düzeydedir [23].

2.2.3. Sirkadiyen ritimden etkilenen sistemler

Uyku-uyanıklık döngülerini içeren serebral aktivite, metabolizma, enerji homeostazı, kalp atış hızı, kan basıncı, vücut ısısı, böbrek aktivitesi, sitokin ve hormon salgılanması sirkadiyen bir ritim etkisi altındadır [12]. Periferik doku ve organlarda temel fizyolojik fonksiyonlar sırasında günlük ritim gösterilmiştir. Karaciğer, böbrek ve ince bağırsak yoluyla ksenobiyotik ve endobiyotik detoksifikasyonu; karaciğer, kas ve yağ dokusunda yer alan karbonhidrat ve lipid metabolizması; renal plazma akışı ve idrar üretimi; ve kan basıncı ve kalp atış hızları gibi kardiyovasküler sistem parametreleri günlük bir ritim göstermektedir [111]. Sirkadiyen bir ritim gösteren kan basıncında en büyük artış uyanma sırasında olduğu belirtilmiştir [123]. Akut miyokard enfarktüsü, iskemik olaylar, ani kardiyak ölüm ve inme insidansının uyandıktan hemen sonraki sabah saatlerinde günün diğer saatlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür [124]. Ayrıca uyku sırasında kan basıncı, gündüz kan basıncı değerlerinden yaklaşık %10-20 daha düşük olduğu bildirilmiştir [125].

Vücut sıcaklığındaki sirkadiyen değişime bakıldığında, sıcaklık en düşük (36,5°C) sabah uyanmadan hemen önceki saatlerde ve en yüksek (37,5°C) akşamın erken saatlerinde ölçülmüştür [30]. Sirkadiyen ritmin izlenmesi için serum, tükürük, idrar, beyin omurilik sıvısı gibi vücut sıvılarında çalışmalar yapılmıştır [27, 28]. Vücut sıvı bileşenlerinin bir kısmı sirkadiyen ritimle uyumlu olarak artıp azalabilmektedir. Yapılan bir çalışmada tükürük ve plazmada tanımlanan tüm metabolitlerin %15'i sirkadiyen ritim göstermektedir [126]. Tükürüğün bileşenleriyle beraber akış hızının da sirkadiyen ritimden etkilendiği

gösterilmiştir [127]. İnsan kanında yer alan kalsiyum, inorganik fosfat, demir, çinko konsantrasyonlarının ve çeşitli lökosit popülasyonlarının da sirkadiyen ritim gösterdiği bildirilmiştir [29, 30]. Kalsiyum iyonunun kanda sabah 10.00 civarında maksimum konsantrasyon değerine ulaştığı görülmüştür [29]. Plazma demir ve çinko konsantrasyonlarının 24 saatlik değişiklik paterni ile rektal sıcaklığın 24 saatlik değişiklik paterni arasında, yaklaşık olarak ters bir ilişki olduğu yapılan çalışmada gösterilmiştir [30].

Sirkadiyen ritmin en önemli göstergeleri; vücut ısısı, melatonin, kortizol hormonu ve uyku-uyanma döngüsüdür [25, 26]. Ayrıca; Sirkadiyen ritmin değerlendirilmesinde insan dinlenme/aktivite döngüsünü ölçmenin kolay, invaziv olmayan bir yöntemi olan aktigrafi de kullanılabilir [26].

2.3. Tükürük

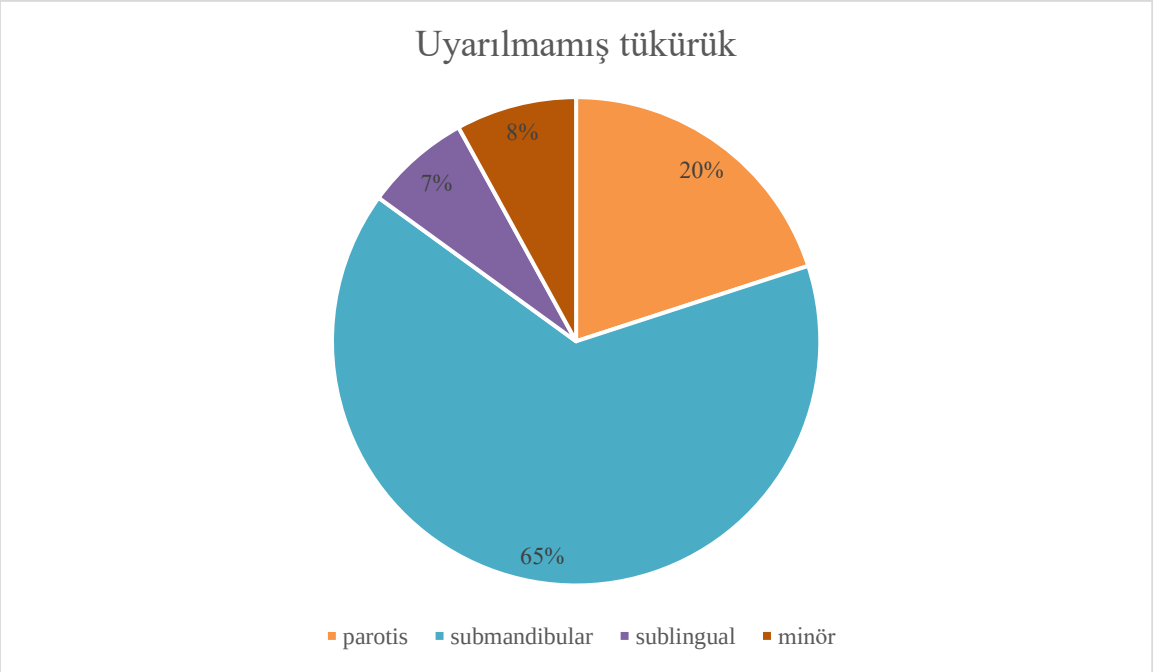
Majör ve minör tükürük bezlerinden salgılanan sıvılara burun boşluğu, yutak ve ağız mukozasından gelen sıvıların eklenmesiyle oluşan berrak, hafif asidik bir ekzokrin salgıdır [31, 32]. Besin kalıntıları, bakteriler, dişeti oluğu sıvısı, kandan aktif ve pasif olarak geçen proteinler, eritrositler, epitel hücreleri, mukozal lezyonlar veya enfeksiyon varlığında artan lökositler de tükürük içeriğine katkıda bulunur [33, 34].

2.3.1. Tükürük bezleri

Tükürük bezleri, majör ve minör tükürük bezleri olmak üzere ayrılır. Majör tükürük bezleri; parotis, submandibular ve sublingual tükürük bezleridir. Parotisler tükürük bezleri arasında en büyüğüdür ve kulağın önünde, mandibular ramusun arkasında yer almaktadır. Maksiller birinci azı dişlerin yanak mukozasında yer alan stenson kanalıyla ağıza açılır [32, 128]. Submandibular tükürük bezleri mylohyoid kasın altında submandibular üçgende arasında yer alır. Submandibular tükürük bezleri, lingual frenulumun her iki yanında Wharton kanalı yoluyla ağza açılır. Majör tükürük bezlerinin en küçüğü olan sublingual tükürük bezleri, ağız tabanı bağ dokusu ile mylohyoid kas arasında yer alır ve Bartholin kanalı ile ağza açılır. Minör tükürük bezler alt dudakta, dilde, damakta, yanaklarda ve yutakta bulunur [32, 36, 128].

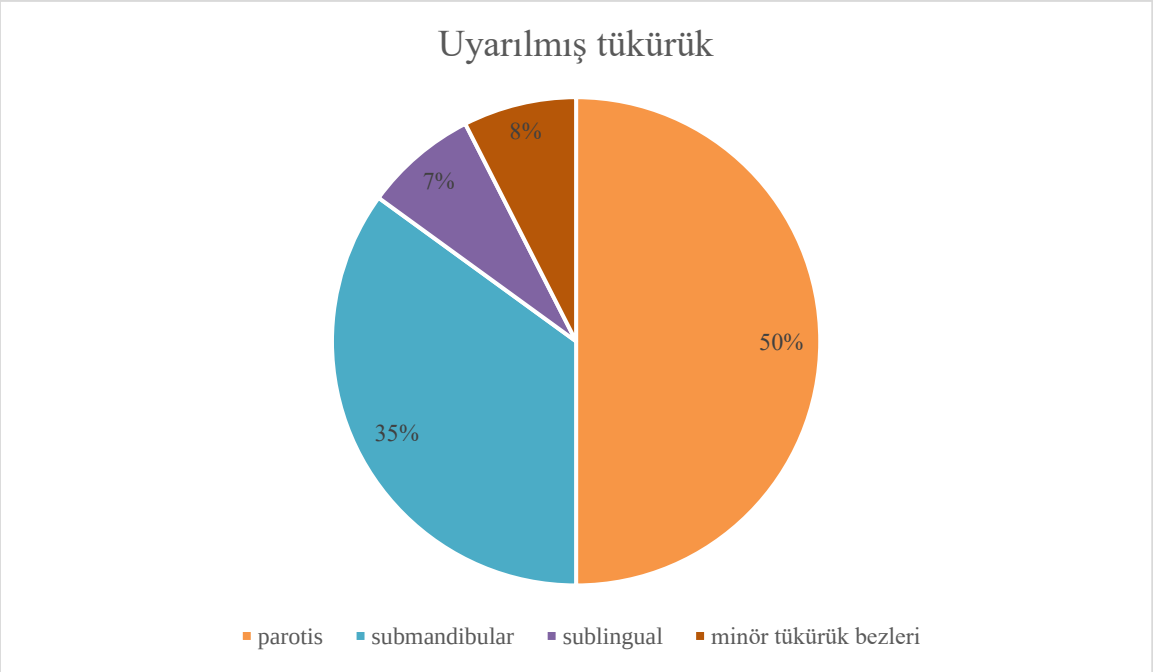
2.3.2. Tükürük sınıflandırılması

Tükürük salgılanmasında uyarım olup olmamasına göre uyarılmış ve uyarılmamış tükürük olarak iki şekilde sınıflandırılır. Uyarılmamış tükürük, çiğneme ve tatma gibi bir dış etken ve farmakolojik etkiler gibi bir uyarı olmaksızın doğal akışında biriken tükürük salgısıdır. Uyarılmamış tükürüğün %20'si parotis, %65'i submandibular, %7-8'i sublingual, %10'dan daha azı da yüzlerce küçük tükürük bezleri tarafından üretilir (Şekil 2.3) [32, 36].



Şekil 2.3. Tükürük bezlerinin uyarılmamış tükürük salgılama oranı

Uyarılmış tükürük ise duyusal, mekanik ve elektriksel uyarılarla salgılanan tükürüğe denir. Uyarılmış tükürüğün %50'sinden fazlası parotis , %35'i submandibular, %15'i sublingual ve minör tükürük bezleri tarafından salgılanmaktadır (Şekil 2.4) [32, 36].



Şekil 2.4. Tükürük bezlerinin uyarılmış tükürük salgılama oranı

Tükürük salgısı yapısal özelliklerine göre ise seröz, müköz veya karışık olarak sınıflandırılabilir. Müköz bezlerin salgıları müsinden zengindir ve viskoziteleri yüksektir. Bu salgı daha çok mukoza kayganlığı sağlar ve mukozayı koruyucu özelliği vardır. Seröz bezler ise enzim ve mineralden zengin, akıcı, sulu bir salgı üretirler. Mikst (serömüköz) bezler ise barındırdıkları seröz ve müköz hücrelerin yoğunluğuna bağlı olarak salgı yaparlar. Seröz salgılar esas olarak parotis bezinden, müköz salgılar minör bezlerden salgılanırken ve karışık seröz ve mukus salgıları sublingual ve submandibular bezlerden üretilir [32, 34].

2.3.3. Tükürük içeriği

Ağız sıvılarının karışımından ibaret olan total tükürük majör (%90) ve minör tükürük bezlerinin salgılarını içerir. Tükürük bezlerinin salgıları dışında tükürük; dişeti oluğu sıvısı, üst solunum yolu ve bronşiyal salgılar, serum kaynaklı ürünler, kan hücreleri gibi tükürük dışı kaynaklar ve bakteriler ve bakteriyel ürünler, virüsler, mantarlar, epitel artıklar ve debris içerir [42, 129]. DNA, mRNA, proteinler, metabolitler ve mikrobiyota gibi çeşitli biyomoleküller, serum ve diğer vücut sıvılarına benzer şekilde tükürükte de bulunur [129]. Tükürük kanallarını sistemik dolaşımdan ayıran ince epitel hücre tabakası, pasif ve aktif taşıma yoluyla serum bileşenlerinin tükürüğe geçişini sağlar [130].

Tükürük temel olarak su, inorganik bileşenler ve organik bileşenlerden oluşmaktadır. Tükürüğün yapısındaki başlıca inorganik iyonlar; sodyum, potasyum, klor, magnezyum, kalsiyum, sülfat, fosfat, bikarbonat, iyot ve flordur. Sodyum, potasyum ve klor tükürüğün iyonik gücünü koruyan en önemli iyonlardır. Tükürüğün iyonik bileşimi plazmadan kaynaklı olmasına rağmen plazma farklıdır [34]. Tükürük başlangıçta asinüslerde oluştuğunda izotoniktir. Tükürük kanallarında enerjiye bağımlı olarak izotonik tükürüğün sodyum ve kloürür iyonları reabsorbe olur ve plazmaya kıyasla daha düşük seviyede iyon konsantrasyonunda hipotonik sıvı salgılanmasını sağlar [42]. Tükürüğün hipotonik olması tat almayı kolaylaştırır ve oral mukoza üzerinde koruyucu bir tabaka oluşturan çeşitli organik bileşikleri hidratlar [34, 131].

Tükürüğün içerisindeki başlıca organik yapılar arasında glikoproteinler, immunoglobulinler (Ig M, Ig G, Ig A), enzimler, proteinler, aminoasitler, karbonhidrat, üre, amonyak, lipit, glikolipit, trigliserit ve besin artıkları gibi birçok bileşik yer alır [32, 34, 131]. Bu bileşenler çeşitli işlevlerde etkileşime girerler. Müsinler, amilazlar, aglutininler, glikoproteinler, lizozimler, peroksidazlar, laktoferrin ve salgı IgA dahil olmak üzere bir çok organik bileşen ağız boşluğu dokularının korunmasına yardımcı olur [131]. Ayrıca tükürük, çeşitli antimikrobiyal bileşenler ve büyüme faktörleri içerir [131-133].

Tükürüğün normal pH'ı 6 ile 7'dir, yani hafif asidiktir. Tükürük akışındaki pH, 5,3 (düşük akış) ila 7,8 arasında değişebilir. Majör tükürük bezleri, salgı hacmine ve elektrolit içeriğinin çoğuna katkıda bulunur [32].

Tükürüğün salgılandığı bez, akış hızı, stimülasyon süresi, biyolojik ritimler ve çeşitli hormonlar tükürükte bulunan iyon ve proteinlerin konsantrasyonunu etkilemektedir. Uyarılmış tükürük kompozisyonu, uyarılmamış tükürük kompozisyonundan farklıdır (Çizelge 2.6) [32].

Çizelge 2.6. Uyarılmış ve uyarılmamış tükürüğün bileşimi [32]

	Uyarılmamış	Uyarılmış
Su	99.55 %	99.53%
Solid	0.45%	0.47%
	Ortalama ± S.D.	Ortalama ± S.D.
Akış hızı	0.32 ± 0.23	2.08 ± 0.84
pH	7.04 ± 0.28	7.61 ± 0.17
İnorganik İçerik		
Sodyum (mmol/L)	5.76 ± 3.43	20.67 ± 11.74
Potasyum (mmol/L)	19.47 ± 2.18	13.62 ± 2.70
Kalsiyum (mmol/L)	1.32 ± 0.24	1.47 ± 0.35
Magnezyum (mmol/L)	0.20 ± 0.08	0.15 ± 0.05
Klorür (mmol/L)	16.40 ± 2.08	18.09 ± 7.38
Bikarbonat (mmol/L)	5.47 ± 2.46	16.03 ± 5.06
Fosfat (mmol/L)	5.69 ± 1.91	2.70 ± 0.55
Tiyosiyonat (mmol/L)	0.70 ± 0.42	0.34 ± 0.20
İyodür (µmol/L)	-	13.8 ± 8.5
Florür (µmol/L)	1.37 ± 0.76	1.16 ± 0.64
Organik İçerik		
Total protein (mg/L)	1630 ± 720	1350 ± 290
Salgısal IgA (mg/L)	76.1 ± 40.2	37.8 ± 22.5
MUC5B (mg/L)	830 ± 480	460 ± 200
MUC7 (mg/L)	440 ± 520	320 ± 330
Amilaz (U = mg maltoz/ml/min)	317 ± 290	453 ± 390
Lizozim (mg/L)	28.9 ± 12.6	23.2 ± 10.7
Laktoferrin (mg/L)	8.4 ± 10.3	5.5 ± 4.7
Statherin (µmol/L)	4.93 ± 0.61	-
Albumin (mg/L)	51.2 ± 49.0	60.9 ± 53.0
Glikoz (µmol/L)	79.4 ± 33.3	32.4 ± 27.1
Laktat (mmol/L)	0.20 ± 0.24	0.22 ± 0.17
Total Lipit (mg/L)	12.1 ± 6.3	13.6
Amino Asit (µmol/L)	780	567
Üre (mmol/L)	3.57 ± 1.26	2.65 ± 0.92
Amonyak (mmol/L)	6.86	2.57 ± 1.64

2.3.4. Tükürük fonksiyonları

Tükürük oral fonksiyonların gerçekleştirilmesinde, sert ve yumuşak dokuların bütünlüğünün korunmasında ve uygun bir ekolojik denge oluşturmak için önemli bir koruyucu faktördür. Tükürük, oral yüzeyleri mekanik olarak temizleyerek, bakteriler tarafından üretilen asitleri tamponlayarak ve bakteriyel aktiviteyi modüle ederek plak üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Tükürüğün antibakteriyel bileşenlerinden lizozim, bakterilerin hücre duvarına etki eden hidrolitik bir enzimdir ve hem gram-negatif hem de gram-pozitif bakteriler üzerinde etkilidir. Tükürükteki laktoperoksidaz-tiyosiyanat sistemi bakteriyel büyüme için gerekli olan lizin ve glutamik asit birikimini önleyerek etki gösterir. Tükürük peroksidazına benzer bir enzim olan miyeloperoksidaz lökositler tarafından salınır ve Actinobacilluslar için bakterisidal etki gösterir [34, 35, 134].

Tükürükte yer alan bikarbonatlar, fosfatlar ve üre, pH'ı ve tükürüğün tamponlama kapasitesini modüle etme görevi görür. Tükürüğün kompleks bir protein olan müsin, diş yüzeyine bağlanıp asit ataklarına karşı koruyucu etkinin yanı sıra aynı zamanda bakteri agregasyonu ile patojen bakterilerin kolonizasyonunu önler ve oral mikroorganizmaları temizlemeye yardımcı olur. Kalsiyum, fosfat ve proteinler demineralizasyonu modüle eder ve remineralizasyonu sağlar. İmmünoglobulinler gibi proteinler ve enzimler antibakteriyel etki sağlar. Tükürüğün fonksiyonları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Çizelge 2.7) [34, 35].

Çizelge 2.7. Tükürüğün fonksiyonları [34, 35]

İşlev	Tanım	Bileşenler
Yağlama ve nemlendirme	Mikroorganizmaları uzaklaştırmak için mekanik, kimyasal ve termal tahrişe karşı koruma, mikrobiyal hemostaz.	Müsin 7, Müsin 5B
Mikrobiyal hemostaz	Anti-bakteriyel, anti-viral, anti-fungal etkiler, aglütinasyon.	α -amilaz, histatin, statherin, alfa ve beta defensinler, lizozim, laktoferrin, sistatinler, Ig A vb. tükürük proteinleri
Diş koruması ve mineralizasyon	Dişleri aşınmaya, yıpranmaya, erozyona ve diş çürüğüne karşı korumak. Pelikıl oluşumu.	İyonik bileşenler (kalsiyum ve fosfat) ve tükürük proteinleri
Sindirim ve bolus oluşumu	Nişastanın maltoz, maltotrioz, maltotetroz ve oligosakkaritlere bölünmesi. Yutma işleminin kolaylaşması.	α-amilaz
Oral temizlik (Klerens)	Yuttuktan sonra kalan tükürük hacmi. Gıda, hücreler, mikroorganizmalar ağızdan uzaklaştırır.	-
Tat ve koku	Tat maddelerinin çözünmesi ve dağılımı. Tat, tükürük akışını uyarır. Tükürük, yiyeceklerin koku salmasını tetikler. Tükürük, tat alma tomurcuklarının ortamını korur.	Tat tomurcuklarında bulunan tat reseptörleri, Lipokalin ve lingual lipazlar
Tamponlama	Zarar verici etkilere karşı koruma. Asit ile reaksiyondan sonra asidik formunun tamponlanması. Diş çürüklerinin önlenmesi. pH modülasyonu.	Bikarbonatlar, fosfatlar, üre ve elektrolit seviyesi
Yara iyileşmesi	Tükürük hızlandırılmış yara iyileşmesi.	Mukus zarı, Büyüme faktörleri, Tükürük proteinleri

2.3.5. Tükürük akışı ve sinirsel düzenlemesi

Tükürüğün ortalama günlük akışı sağlıklı bir kişide 0,5 ile 1,5 L arasında değişmektedir [135]. Ortalama uyarılmamış akış hızı 0,3-0,4 ml/dk iken uyarıldığında akış hızı, 1,5-2 ml/dk aralığındadır [32, 34, 35]. 16 saatlik uyanıklık halinde uyarılmamış tükürük akışın ortalama toplamı 300 ml'dir. Uyku sırasında tükürük akışı neredeyse sıfırdır. Uyarılmış tükürüğün ortalama günlük tükürük üretiminin %80 ile %90'ına katkıda bulunduğu bildirilmektedir [34, 36].

Tükürük bezlerinin fonksiyonları, otonom sinir sisteminin kontrolü altındadır. Parasempatik ve sempatik sinir lifleri tarafından uyarılırlar [32, 136]. Her iki şekildeki uyarı, miktar ve içerik bakımından farklı tükürükler üretir. Sempatik innervasyonlar baskın olduğunda tükürük daha fazla protein içerirken, parasempatik innervasyonlar baskın olduğunda daha akıcı bir salgı üretir [136, 137].

Tükürük salgısı üretimi için belirli tetikleyiciler vardır ve bu tetikleyiciler mekanik, tat alma ve koku alma şeklindedir. Salgıyı etkileyen diğer faktörler arasında ağrı, belirli ilaç türleri ve bezleri etkileyen çeşitli lokal veya sistemik hastalıklar gibi faktörler bulunur [34, 138].

Tükürük akışında yıllık ve günlük değişimler vardır [139]. Yıllık olarak baktığımızda yaz aylarında en düşük akış hızı meydana gelirken, en yüksek akış hızı kış aylarında gerçekleşmektedir [36]. Günlük değişime baktığımızda ise tükürük akış hızı ve vücut sıcaklığı öğleden sonra pik yaparken uyku sırasında en düşük seviyeye iner [32]. Sirkadiyen ritim sadece akışı değil aynı zamanda tükürük bileşenlerinin konsantrasyon seviyesini de etkiler [127]. Tükürük akış hızının artmasıyla protein, sodyum, klorür ve bikarbonat gibi bileşenlerin konsantrasyonu yükselirken; magnezyum ve fosfat gibi bileşenlerin konsantrasyonun da düşer [32].

Uyarılmamış tükürük akış hızında artış (hipersalivasyon) mide bulantısı, tahriş edici gıdaların yutulması, fizyolojik (sirkadiyen ritim) veya patolojik (serebral palsi vb.) durumlar ve ciddi nörolojik bozukluklar nedeniyle oluşabilir [140].

Uyarılmamış akış hızının 0,1 ml/dk küçük olması tükürük hipofonksiyonu olarak kabul edilir [32, 35]. Nüfusun yaklaşık %30'u bir dereceye kadar ağız kuruluğu bildirmiştir, bu da ağız kuruluğunun nadir görülen bir durum olmadığını göstermektedir. Yetersiz tükürük

akışına bağlı olarak gıdanın sindirim-tat alma fonksiyonunda azalma ve ağız yapılarının hastalığa karşı artan duyarlılığı görülebilir [141].

Uyarılmamış tükürük akış hızını etkileyen en önemlisi faktörlerden biri de hidrasyon derecesidir. Vücut su içeriğindeki %8'lik bir azalmanın tükürük akış hızında %100'lük bir azalmaya neden olabileceği bildirilmiştir. Hiperhidrasyon, ışığa maruz kalma, koku alma uyaranları ve vücut pozisyonu da akış hızını etkileyebilir. Oturma pozisyonundaki akış hızı ile karşılaştırıldığında, ayakta durma pozisyonunda daha yüksek akış hızı değerleri ve yatma pozisyonunda daha düşük değerler bildirildi [142].

Kserostomi ve tükürük bezi hipofonksiyonunun birden fazla nedeni vardır, en yaygın olanı antikonvülzanlar, antiparkinson, antipsikotik, antidepresanlar, antihistaminikler, antihipertansifler, antineoplastikler, antiparazitikler, antiemetikler, antiaritmikler, antimigren ajanlar, dekonjestanlar ve diüretikler gibi ilaca bağlı olandır. Çünkü çoğu yaşlı yetişkin tükürük bezi hipofonksiyonuna neden olan en az bir ilaç kullanmaktadır. Ayrıca sjögren sendromu, romatoid artrit, sarkoidozis, diabetus mellitus, malnütrisyon, parkinson, anokroksia nevroza, hipertansiyon, HIV ve Hepatit C virüsü, radyoterapi ve kemoterapi tükürük bezleri fonksiyonunun bozulmasının en önemli nedenlerindendir [32]. Dehidrasyon, adrenerjik stimülasyon ve egzersiz tükürük akış hızını azaltabilir [143].

2.3.6. Teşhiste tükürüğün önemi

Lokal ve sistemik hastalıkların teşhisi, tedavisi ve önlenmesi için tükürük bileşenlerini ve fonksiyonlarını inceleyen birçok araştırma yapılmaktadır [42, 144-154]. Tükürük invaziv olmayan metotlarla kolay ve hızlı örneklenebilen, saklaması kolay bir bilgi kaynağıdır [42].

Tükürük; viral ve bakteriyel enfeksiyonların tespitinde, kanser araştırmalarında, farmasötik ve kötüye kullanılan ilaçların izlenmesinde, böbrek hastalıklarında, kardiyovasküler hastalıklarda, otoimmün hastalıklarda, diyabetes mellitus gibi metabolik hastalıklarda, adli tıp araştırmalarında, dental çalışmalarda ve uyuşturucu kullanımının izlenmesinde başarıyla kullanıldığı bilinmektedir [42, 144-149]. Ayrıca fiziksel olarak efor testini ve psikolojik stresi izlemede tükürüğün kullanımını öneren bazı çalışmalar da yapılmıştır [150-154].

2.3.7. Tükürük örneklerinin toplanması

Tükürük örnekleri, stimülasyonla veya stimülasyon olmadan toplanabilir. Günümüzde tükürük örneklerini toplamak için çeşitli yöntemler ve aparatlar mevcuttur. Bunlar arasında en kolay ve uygulanabilir yöntem ağız içerisinde herhangi bir uyarı olmaksızın biriken uyarılmamış tükürüğün örneklenmesidir [42]. Uyarılmış tükürük örnekleri tat-koku uyarımı, parafin, lastik bant, nötr sakız çiğneme veya dile sitrik asit uygulaması, sitrik asitli pamuk çiğnetme, sitrik asitli gıdaların ağızda tutulması gibi yöntemlerle tükürük üretiminin stimüle edilmesi sonrasında toplanabilir [42, 148]. Ayrı ayrı tükürük bezlerinden tükürük örneklenmesi, glandüler kanala tüp konulmasıyla veya çıkış alanına özel toplama cihazları yerleştirilmesiyle sağlanabilir. Bununla birlikte, bu prosedürler karmaşık, yavaş, invazivdir ve tecrübeli personel gerektirir [42, 155].

Tükürük akış hızını ve bileşimini değiştirebileceğinden, numune alımından en az yarım saat önce yiyecek, sıvı alınması ve sakız çiğnenmesi önerilmez. Ağzın suyla çalkalanarak temizlenmesinin, analizleri engelleyebilecek kalıntıların giderilmesine yardımcı olacağı önerilmiştir [42, 150]. Tükürük toplama yöntemleri şunlardır; (1) tükürüğün gönüllülerin alt dudağından bir huniyle dereceli bir test tüpüne damlatılması, (2) ağız tabanında biriken tükürüğün 60 saniyede bir derecelendirilmiş bir test tüpüne tükürtülmesi, (3) ağız tabanından test tüpüne tükürük emici veya aspiratörle tükürüğün vakumlanarak aktarılması ve (4) ağız içine yerleştirilmiş pamuk veya polietlien rulo veya gazlı beze tükürüğün emdirilmesi [142].

Tükürük toplanmasını kolaylaştıran bazı ticari aparatlar geliştirilmiştir. Bu aparatlar genellikle tükürüğün emilmesi için küçük bir pamuk, polyester veya polietilen parça içermektedir. Santrifüjleme ve toplanan tükürüğün geri kazanılması için konik bir tüp içerirler. En yaygın ticari sistemler arasında şunlar bulunur: sentetik çubuk ile toplanan Oral Salimetrics Swab (Salimetrics LLC, Pensilvanya, ABD), pamuk, polyester ve polietilen tamponlar ile toplanan Salivette® (Sarstedt, Nümbrecht, Almanya) ve suni ipek toplar ile toplanan Orapette (Trinity Biotech, Dublin, İrlanda) [156, 157].

Toplama sistemi seçimi, incelenecek biyobelirteç dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Tükürük örneği toplarken sitrik asit veya pamuk/polyester rulo kullanılması, immünolojik testlerde testosteron ve kortizol konsantrasyonlarını etkilediği gösterilmiştir [158-160].

2.3.8. Periodontal hastalıklar ve tükürük biyobelirteçleri

Tükürük, oral ve sistemik sağlık durumunu yansıtan biyobelirteçleri içeren bir zengin kaynaktır. Periodontal hastalık, kronik inflamasyon, bağ dokusu yıkımı ve alveolar kemik yıkımı ile karakterize kronik bir bakteriyel enfeksiyondur (Çizelge 2.8) [161].

Tükürük biyobelirteçleri; periodontal doku yıkımının erken tespiti, hastalık aktivitesini ve ilerlemesini izlemek, tedaviye yanıtı izlemek veya gelecekteki hastalık ilerlemesine duyarlılık derecesini ölçmek için önemlidir [46-48].

Çizelge 2.8. Tükürükte biyobelirteç inceleyen bazı güncel diş hekimliği çalışmaları

Yazar	Birey sayısı (n) / yaş aralığı	Gruplar	Örnekleme zamanı	Değerlendirilen biyobelirteç
Ingman ve ark. (1996) [57]	17/37-69 yaş 6/16-33 yaş 11/22.36 yaş	Erişkin periodontitis ve lokalize juvenil periodontitis	10:00 ile 14:00 arası	MMP 1-8 ve TIMP
Rhodus ve ark. (2005) [52]	39/-	Sağlıklı, oral skuamöz hücreli karsinomlu ve oral liken planuslu gruplar	09:00 ile 11:00 arası	TNF-α, IL-1α, IL-6 ve IL-8
Miller ve ark. (2006) [44]	57/ 28-61 yaş	Orta-şiddetli periodontitis ve sağlıklı gruplar	Aynı zaman diliminde	IL-1β, MMP-8 ve OPG
Arroyave ve ark. (2007) [58]	66/ 18-66 yaş	Kronik periodontitis, agresif periodontitis ve sağlıklı kontroller	-	İl-1β
Frodge ve ark. (2008) [43]	74/21-58 yaş	Orta ila şiddetli periodontal hastalığı olan ve sağlıklı kontroller	Aynı zaman diliminde	TNF-α, ICPT ve RANKL
Sexton ve ark. (2011) [45]	68/25-69 yaş	Kronik periodontitisli	09:00 ile 11:00 arası	IL-1β, MMP-8, OPG, Il-8, TNF-α ve MIP-1α
Sanchez ve ark. (2013) [56]	74/27-61 yaş	Sağlıklı, hafif, orta ve şiddetli periodontitisli gruplar	10:00	IL-1β ve PGE2
Kamatani ve ark. (2013) [53]	16/-	Oral skuamöz hücreli karsinomlu (OSCC) hastalar	9:00 ile 10:00 arası	IL-1β, MMP-2, MMP-9, VEGF, IL-6 ve TNF-α
Nagarajan ve ark. (2015) [162]	80/23-52 yaş	Gingivitisli ve periodontitisli gruplar	9:00 ile 15:00 arası	IL-1, IL-6, MMP-8 ve MIP-lα
Abduljabbar ve ark. (2016) [54]	72/33-55 yaş	Obez ve obez olmayan peri-implant grupları	07:00 ile 09:00 arası	IL-6 ve IL-1β
Robati ve ark. (2016) [55]	90/-	Oral liken planuslu hasta, sağlıklı gruplar	8:00 ile 10:00 arası	TNF-α, IL - 6
Yarkac ve ark. (2018) [163]	60/20-45 yaş	Gebe ve gebe olmayan gingivitisli hastalar	Sabah saatleri	IL-1β, IL-10, CgA

Periodontitis ile ilişkili tükürükte birçok biyobelirteç tespit edilmiştir [43-45]. Sitokinler, kemokinler, enzimler ve immünoglobulinler, periodontal durum hakkında potansiyel olarak önemli bilgiler sağlayabilen faktörlerdir. Periodontal hastalıklarda; enflamatuvar, bağ

dokusu yıkım ve alveolar kemik yıkım ürünleri artış göstermektedir. Meydana gelen bu ürünlerin, periodontal hastalıklarda tanısal öneme sahip biyobelirteçler olarak kullanılmaları söz konusudur (Çizelge 2.9) [47].

Çizelge 2.9. Periodontal hastalığın tükürük biyobelirteçleri

Enflamatuvar Biyobelirteçler	Bağ Dokusu Yıkım Ürünleri	Kemik Remodeling Biyobelirteçleri
β-Glukuronidaz	Matriks Metalloproteinazlar	Alkalin Fosfataz
C-Reaktif Protein	Aminotransferazlar	Osteoprotegerin
IL-1	Katepsin G	RANKL
IL-6	α2-Makroglobulin	Osteokalsin ve Osteonektin
TNF-α	Elastaz	Hepatosit Büyüme Faktörü
Makrofaj İnflamatuar Protein-1α	Metalloproteinazların Doku İnhibitörleri	C-Terminal Tip I Kollajen Bozunma Ürünleri

İnterlökin-1beta (IL-1β)

IL-1 sitokin ailesi; IL-1 alt ailesi (IL-1α, IL-1β, IL-33, IL-1Ra), IL-18 alt ailesi (IL-18 ve IL-37) ve IL-36 alt ailesi (IL-36α, IL-36β, IL-36γ, IL-38, IL-36 Ra) gibi 3 alt grup olmak üzere 11 üyeden oluşmaktadır [48]. IL-1 in temel formlarından birisi olan IL-1β vücutta çok çeşitli biyolojik aktivitelere katılır. IL-1 esas olarak mononükleer fagositer hücreler olmak üzere endotel hücreleri, keratinositler, sinoviyal hücreler, astrositler, osteoblastlar, nötrofiller, glial hücreler ve diğer hücreler tarafından üretilir [164]. Tükürük, DOS, idrar, serum, beyin omurilik sıvısı, sinovial sıvı gibi vücut sıvılarında IL-1 tespit edilmiştir [44, 49, 59, 165-171]. Deri, olgunlaşmamış kemik, lenfoid doku, timus, dalak, lenf düğümleri, peyer plakları, kemik iliği, akciğer, karaciğer, sindirim sistemi, böbrek, uterus gibi dokularda IL-1 gen ekspresyonu görülmüştür [172].

IL-1α ve IL-1β sitokinleri ateş, uyku, anoreksiya ve hipotansiyona neden olduğu bilinmektedir. Romatoid artrit, sepsis sendromu, enflamatuvar bağırsak hastalığı, akut ve kronik myeloid lösemi, diyabetus mellitus, transplant reddi, graft-versus-host hastalığı, sedef hastalığı, astım, osteoporoz, periodontal hastalık, otoimmün tiroidit, alkolik hepatit, erken doğum ve hatta uyku bozukluklarının patogenezi IL-1 ile ilişkilendirilmiştir [173].

IL-1β ilk olarak bir proprotein olarak üretilir. İnaktif formda olan pro-IL-1β, kaspaz-1 tarafından aktif formu olan IL- 1β'ya dönüştürülür [174, 175].

Bir proenflamatuvar sitokin olan IL-1, immün düzenlemede ve çeşitli enflamatuvar yanıtlarda merkezi bir rol oynar. Sadece bir enflamatuvar aracı olarak değil, aynı zamanda hücre dışı matriks ve kemiğin bir modülatörü olarak işlevi nedeniyle bir periodontal hastalık belirteci olarak tanımlanmıştır [176, 177].

IL-1, hücreler arası yapışma molekülünün ekspresyonunu artırarak lökositlerin endotel hücre yapışmasını uyarır. IL-1 ayrıca kan damarları üzerinde etki ederek vazodilatasyona neden olur. IL-1'in proenflamatuvar aktivitelerinin çoğu, ikinci haberciler olarak işlev gören prostaglandin E2 ve lökotrien B4 gibi birçok eikosanoid ile araşidonat metabolizmasını indükleyebilir [164].

IL-1, hipofiz hormonlarının salınımını uyarır, kollajenazların sentezini artırarak kıkırdak yıkımına neden olur ve prostaglandinlerin üretimini uyararak ağrı eşiğinde bir azalmaya yol açar [173]. T hücrelerinin proliferasyonunu artırabilmekte, ayrıca hipotalamustaki vasküler endotelyumdan prostaglandin E2 sentezini artırarak ateşin yükselmesini tetikleyebilmektedir [178]. IL-1β inflamasyon bölgesinde mast hücrelerinden histamin salınımını uyararak vazodilatasyon ve damarsal geçirgenliğini artırmaktadır [179].

Periodontal hastalığın patogenezinde önemli bir sitokin olan IL-1β periodontal hastalıkta tükürük biyobelirteçleri arasında klinik araştırmalarda en kapsamlı çalışılan sitokindir [48]. Periodontitisli hastaların tükürük ve dişeti oluğu sıvılarında sağlıklı gruplara göre artmış IL-1β seviyeleri saptanmıştır [44, 49, 59, 165, 166]. Tükürük IL-1β seviyelerinin periodontal tedaviden sonra azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [168, 180]. Tükürükte yapılan çalışmalarda IL-1β seviyelerinin periodontal klinik parametreler ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği görülmüştür [44, 49].

Tümör nekroz faktör-alfa (TNF-α)

Proenflamatuvar sitokin grubunda yer alan TNF-α; makrofajlar ve monositler tarafından üretilen polipeptid bir sitokindir. TNF-α, enflamatuvar sürecin en önemli sitokinlerinden birisidir. TNF-α, dolaşımdaki lökositlerin inflamasyon bölgesine geçişini sağlamak üzere endotel hücreleri üzerinde adezyon moleküllerinin sayısını ve kemokinlerin üretimini artırarak etki gösterir. Enflamatuvar cevabı güçlendirmek ve sürdürmek için gerekli olan

prostaglandinlerin ekspresyonunu ve MMP'ler gibi yıkıcı enzimlerin üretilmesini uyarır [9, 181].

TNF-α; kemik ve kıkırdak rezorbsiyonunu, fibroblastlardan kollajenaz salgılanmasını indükler ve periodontitiste periodontal dokuların yıkımında rol oynar [182-184]. Osteoklastları aktive ederek kemik rezorbsiyonunu uyarır [185, 186]. MMP'leri etkileyerek bağ dokusu yıkımında rol oynar [182]. TNF-α, makrofajlardan IL-1 ve PGE2 sentezini indükler [181, 185].

Periodontitisli bireylerin dişeti oluğu sıvılarında sağlıklı ve gingivitisli bireylere göre artmış TNF-α seviyeleri saptanmıştır [100]. Tükürükte ortalama TNF-α seviyeleri, periodontal hastalıklı bireylerde sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir [43]. Periodontitisli hastaların TNF-α seviyelerinde oral hijyen artışı veya periodontal tedavi sonucu azalma görülmüştür [45]. Tükürükte yapılan bazı çalışmalarda periodontitisli ve sağlıklı gruplar arasında TNF-α seviyelerinde anlamlı bir fark bulunamamıştır [59-61]. Periodontitisli ve sağlıklı bireyler arasında yapılan bazı çalışmalarda tükürükte TNF-α düzeylerinin tespit seviyesinin altında olduğu bildirilmiştir [48, 50, 187].

Matriks metalloproteinaz-8 (MMP-8)

MMP'ler; ekstraselüler matriks moleküllerini parçalayabilen çinkoya bağımlı bir enzim ailesidir [188, 189]. MMP'ler; monositler, makrofajlar, lenfositler, polimorfonükleer hücreler, fibroblastlar, epitel hücreleri ve endotel hücreleri gibi çeşitli hücreler tarafından salgılanır [189, 190]. Artrit, glomerulonefrit, derinin otoimmün olayları, karaciğer fibrozu, amfizem, fibrotik akciğer hastalığı, periodontitis ve kronik ülserasyonlar gibi patolojik durumlarda MMP'lerin aktivitelerinde artış görülmektedir [191].

Bakteriyel lipopolisakkaritler konak hücrelerinde proenflamatuvar mediyatörlerin, prostoglandinlerin ve çeşitli proteinazların salgılanmasına neden olurlar. Gingival fibroblastlar, monositler/makrofajlar, epitel hücreler, osteoblastlar/osteoklastlar ve endotelyal hücreler çeşitli proenflamatuvar uyaranlara yanıt olarak proenflamatuvar sitokinlerin, sistein proteinazların ve MMP'lerin salınımını aktive ederler [192].

MMP'ler proenzim olarak sentezlenmekte ve aktive olmaları için moleküler yapılarındaki çinko-sistein bağının ayrılması gerekmektedir [191, 193]. MMP'ler, TIMP (the tissue inhibitors of metalloproteinases) tarafından kontrol ve inhibe edilir. MMP'lerin üretimi TIMP'ların üretimini aşarsa, MMP'ler ve TIMP'lar arasındaki denge bozulmakta ve patofizyolojik olaylar meydana gelmektedir [191, 194].

MMP-8 (kollajenaz 2), periodontal olarak hastalıklı dişeti ve DOS'ta bol miktarda bulunan majör yıkıcı MMP'lerden biridir. MMP-8 üreten başlıca hücreler polimorfonükleer nötrofillerdir [57]. MMP-8 periodontal doku yıkımında önemli bir rol oynar. Periodontitiste MMP-8, periodontal ligamentte en sık bulunan kollajen olan tip 1 kolajeni parçalamada etkilidir [72]. Periodontitis vakalarında DOS ve tükürükte MMP-8 artmaktadır [50, 195]. Periodonsiyumda fazla miktarda MMP-8 salınması, bağ dokusu yıkımına yol açarak hastalığın klinik belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur. Periodontal hastalığın şiddeti arttıkça MMP-8 seviyelerinde artış gözlenmektedir. Periodontal tedaviyle birlikte MMP-8 seviyelerinde düşüş meydana gelmektedir [50, 57, 195-198]. MMP-8'in, DOS'ta ve tükürükte periodontal inflamasyonun iyi bir belirleyicisi olabileceği ileri sürülmüştür [50].

Kortizol

Kortizol, adrenal korteksten salınan steroid yapılı bir glikokortikoiddir [64]. Stres anında, hipotalamustan salgılanan kortikotropin serbestleştirici faktör, hipofiz ön lobundan Adrenokortikotropik hormon (ACTH) salgılanmasına neden olmaktadır. ACTH etkisiyle böbreküstü bezlerden kortizol salgılanmaktadır. Hipotalamus, hipofiz ve adrenal bez arasındaki bu etkileşime "HHA aks" adı verilmektedir [64, 199].

Kortizol kanda serbest ve bağlı şekilde dolaşmaktadır. Kortizolün %90'ı dolaşım sisteminde kortikosteroid bağlayıcı globüline bağlı şekilde bulunmaktadır. Kalan kortizolün %5- %10'u albümine bağlı iken %5 gibi az bir oranı serbest halde bulunur. [200, 201].

Kortizoller dolaşımdaki lenfositlerin, monositlerin, eozinofillerin, makrofajların, nötrofillerin ve mast hücresi sayısını ve kemotaksis, sekresyon ve degranülasyon gibi aktivitelerini azaltır, proenflamatuvar mediatörlerin, sitokinlerin (interlökin) üretimini inhibe eder [202, 203].

Tükürük kortizolünün, serbest serum kortizol düzeylerini yansıttığını gösteren çalışma vardır [204, 205]. Kanda kortizol seviyesindeki bir artışın, tükürüğü etkileme hızının 5 dakikadan daha kısa olduğu bildirilmiştir [206].

Travma, enfeksiyon, ağrı, anksiyete, obezite, gebelik, emosyonel stres, hipertiroidizm, hipoglisemi, aşırı soğuk veya sıcak ortam, akut doku hasarı, cerrahi işlemler, hareketsiz bırakılma, heyecan, norepinefrin ve diğer sempatomimetik ilaçların enjeksiyonu gibi durumların kortizolde artışa neden olduğu bildirilmiştir [207, 208].

Kortizol salınımı aynı zamanda sirkadiyen bir ritim göstermekte olup; kişinin kortizol düzeyi normal şartlar altında sabah saatlerinde en yüksek değerde iken gece saatlerinde en düşük değerine ulaşmaktadır [39, 64]. Kessler ve ark. yaptıkları çalışmada tükürük kortizol seviyeleri 08.00 civarında tavan yaptığı bildirilmiştir [39].

Periodontitis ve periodontal sağlıkta tükürük kortizol seviyelerini değerlendiren çalışmalarda ortak bir konsensus olmadığı görülmüştür. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında periodontitis hastalarında tükürük kortizol düzeylerinde bir artış olduğu görülmüştür [209-211]. Agresif periodontitisli hastaların, sağlıklı veya kronik periodontitisli hastalardan daha yüksek tükürük kortizol seviyelerine sahip olduğu görülmüştür [209]. Yapılan başka bir çalışmada ise, periodontal hastalığı olan bireylerde immünolojik mediyatörler (IL-1β, IL-6), kortizol ve stres bir ilişki bulunamamıştır [212].

2.3.9. Sirkadiyen ritim ve tükürük biyobelirteçleri

Tükürük akışı bireyin fizyolojik durumuna bağlı olarak farklılık gösterdiği gibi gün içerisinde de pek çok faktörden etkilenir. Günlük akış değişkenliği sadece akış miktarını değil, aynı zamanda elektrolit ve protein dengesini de etkiler [34, 127]. Tükürüğün akış hızı ve bazı bileşenleri sirkadiyen bir ritim göstermektedir. Tükürük akış hızı gündüzleri artarken geceleri azalmaktadır [37]. Potasyum konsantrasyonunun saat 12.00 civarında maksimum düzeyde olduğu, sodyum iyonlarının konsantrasyonun da gece saatlerinde maksimum değerlere ulaştığı bildirilmiştir [38]. Geceleri tükürük protein konsantrasyonlarının arttığı ve pH değerlerinin azaldığı görülmektedir. Kortizol için zirve seviyeleri saat 08.00 civarında iken, melatoninin seviyelerinin en az olduğu değerler saat 12.00 civarında tespit edilmiştir [39-41].

Uyarılmış ve uyarılmamış tükürükte yapılan bir çalışmada alfa amilaz, kortizol, pH ve akış hızı düzeylerinin benzer bir sirkadiyen ritim göstermiştir [213]. Ayrıca oral sıcaklık da tükürükteki ritimler gibi sirkadiyen bir ritim göstermektedir [37]. Tükürük içeriğindeki sitokin seviyeleri sınırlı sayıda araştırmalarla incelenmiştir (Çizelge 2.10). Periodontal olarak sağlıklı bireylerin uyarılmış tükürük örneklerinde yapılan bir çalışmada IL-6 düzeyinin saat 04.00 civarında zirve yaptığı, gün ortasında en düşük değere ulaştığı bildirilmiştir [39]. Başka benzer bir çalışmada tükürük IL-6 seviyesinin uyanma anında zirve yaptığı, daha sonra gün ortasına kadar kademeli olarak azaldığı görülmüştür [40]. Uyarılmamış tükürük IL-1β seviyesinin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise uyandıktan sonra ilk 30 dakika dışında alınan örneklerde istatistiksel olarak anlamlı düşüşler görülmüştür [41].

Çizelge 2.10. Tükürükte sirkadiyen ritim etkilerini inceleyen sınırlı sayıdaki araştırmalar

YAZAR	BİREY SAYISI(n)/ YAŞ ARALIĞI	ZAMAN/ SAATLER	DEĞERLENDİRİLEN	TÜKÜRÜK ÖRNEKLEME YÖNTEMİ	SONUÇ
Dawes (1972)[37]	8 / genç yetişkin	4-26 gün/ 07.00, 11.00, 14.00, 17.00 ve 22.00	parotis tükürük hacmi, protein, inorganik fosfat, CI, K, Mg, Ca, Na	Ağızda kalan artık tükürüğü yutulmuş ve baş aşağı, ağız hafif açıkken, tükürüğün alt dudaktan küçük bir plastik huni içine damlamasına izin verilmiştir. Uyarılmamış bütün tükürük 5 dakikalık bir süre boyunca toplanmıştır. Parotis tükürüğü uyarılmamış tükürük toplanmasından yaklaşık 2 dakika sonra bir Lashley kanülü yardımıyla 1-0 ml/min'lik sabit akış hızında ekşi limon damlaları ile uyarılıp 10 dk boyunca toplanmıştır.	Uyarılmamış tükürükte sodyum, klorür konsantrasyonlarında ve akış hızında önemli sirkadiyen ritimler gösterilmiştir. Uyarılmış parotis tükürükte protein, sodyum, potasyum, kalsiyum ve klorür konsantrasyonlarında önemli sirkadiyen ritimler gösterilmiştir.
Dawes (1975)[214]	9 /-.	11 gün/ 07.00, 11.00, 14.00, 17.00 ve 22.00	protein, inorganik fosfat, CI, K, Mg, Ca, Na	Uyarılmamış submandibular tükürük, kanülün ağız tabanına cift taraflı yerleştirilip 5 dk toplanmasıyla elde edilmiştir. Uyarılmış submandibular tükürük kanüle 1-0 ml/min'lik sabit akış hızında ekşi limon damlaları ile uyarılıp 10 dk boyunca toplanmıştır.	Uyarılmamış submandibular tükürükte akış hızı, Na, K, Mg, Cl ve inorganik fosfat konsantrasyonlarında sirkadiyen ritimler bildirilmiştir. Uyarılmış submandibular tükürükte Na, K, Ca, Mg, Cl ve inorganik fosfat konsantrasyonlarında sirkadiyen ritimler gösterilmiştir.
Zhou ve ark. (2003)[215]	52 / 21-25 yaş (n: 12); 41-53 yaş (n:12); 60-72 yaş (n:15 80-93 yaş (n:13)	1 gün/ 01.00, 04.00, 07.00, 08.00, 09.00, 10.00 13.00, 16.00, 19.00, 20.00, 21.00 ve 22.00	melatonin	Tükürük, ağız tabanına sade salivette yerleştirilerek 5 dakika çiğnenmeden toplanmıştır. Katılımcılardan tükürük örnekleri, gündüz oturma pozisyonunda, gece ise sırtüstü pozisyonunda toplanmıştır. 24 saatlik sürenin sonuna kadar 4 ° C'de buzdolabında tükürük örnekleri saklanmıştır.	Tüm yaş gruplarında tükürük melatonini sirkadiyen bir ritim göstermiştir. En yüksek genlik ritmi genç kişilerde bulunmuştur. Melatonin seviyeleri akşam 19.00 saatinden sonra hızla artmaya ve sonra sabah 07.00 saatinden sonra hızla azalmaya başlamıştır.
Izawa ve ark. (2013)[40]	27/21.7 ± 3.3 yaş	07.00, 07.30, 10.00, 13.00, 16.00, 19.00, 22.00 ve 01.00	IL-6 ve CRP	Uyandıktan sonra 30 dakika boyunca ve her örnekleme zamanından 1 saat önce yemek yemekten, içmekten, ağır egzersiz yapmaktan veya dişlerini fırçalamaktan kaçınmaları talimatı verilmiştir. Katılımcılardan tükürüğü birkaç dakika ağızlarında biriktirmeleri ve tükürüklerini kısa bir plastik pipetten bir toplama şişesine biriktirmeleri istenmiştir.	Tükürük IL-6 seviyeleri uyanma anında zirve yapmıştır. Sabahtan öğlene kadar kademeli olarak azaldığı ve katılımcılar uyumadan önce gece yarısı tekrar zirve yaptığı görülmüştür. Tükürük CRP seviyeleri uyanma anında zirve yaptığı bildirilmiştir.
Bel'skaya ve ark. (2017)[38]	40/ 23.1 ± 0.9 yaş	-/03.00, 06.00, 09.00, 12.00, 15.00, 18.00, 21.00, 24.00	pH, Ca, K, Na ve inorganik fosfor iyonlarının konsantrasyonları	Tükürük numuneleri gün içinde her 3 saatte bir 10 dakika içinde toplanmıştır.	Tükürüğün mineral bileşiminin cinsiyete bağlı olduğu gösterilmiştir. pH geceleri minimaldir ve 9.00'da maksimuma ulaştığı bildirilmiştir. Kalsiyum konsantrasyonu 12.00, 15.00 ve 24.00 saatlerinde belirgin minimal bir periyodiklik gösterilmiştir. İnorganik fosfor, erkekler için 12.00 ve kadınlar için 15.00 saatlerinde taban değerlere ulaşmıştır. Sodyum iyonlarının konsantrasyonu geceleri yüksek ölçülmüştür. Potasyum konsantrasyonu, 12.00 civarında maksimum olduğu gösterilmiştir.

Çizelge 2.10. (devam) Tükürükte sirkadiyen ritim etkilerini inceleyen sınırlı sayıdaki araştırmalar

YAZAR	BİREY SAYISI(n)/ YAŞ ARALIĞI	ZAMAN/ SAATLER	DEĞERLENDİRİLEN	TÜKÜRÜK ÖRNEKLEME YÖNTEMİ	SONUÇ
Kessler ve ark. (2020)[39]	29/-	4 hafta*2Kez / 04.00, 08.00, 12.00, 16.00, 20.00 ve 24.00	protein, p, kortizol, melatonin, resistin, adiponektin, IL-6 ve MCP-1	Her katılımcı için bireysel izokalorik diyet planları tasarlanmıştır. Tükürük pamuklu rulo ticari toplama cihazı kullanılarak üreticinin talimatlarına göre (Salivettes®, Sarstedt, Almanya) toplanmıştır. Katılımcılardan pamuk takasını Salivette®'den çıkarmaları, ağızlarına koymaları ve tükürük salgısını uyarmak için yaklaşık 60 120 saniye çiğnemeleri istenmiştir. Katılımcılara, numune toplamadan önce en az 30 dakika boyunca diş fırçalama ve yemekten kaçınmaları talimatı verilmiştir.	Kortizol için zirve seviyeleri 08.00 saatlerinde ve melatonin için taban değerleri 12.00 saatlerinde bulunmuştur. Tükürük insülin seviyeleri, sabahları yüksek karbonhidratlı gıdaya göre daha yüksek olma eğilimi göstermiştir. Tükürük adiponektin ve resistin seviyeleri geceleri maksimum değere ulaşır. Tükürük visfatini günlük değişme göstermedi. Tükürükteki IL -6 ve MCP seviyelerinin 04.00 civarında zirve yaptığı görülmüştür. Geceleri tükürük protein konsantrasyonlarının arttığı ve pH değerlerinin azaldığı bildirilmiştir.
Sarkar ve ark. (2021)[41]	12/26.5 ± 5.2 yaş	-/ uyandıktan hemen, +30 dakika, +3 saat, +6 saat, +9 saat sonra ve yatmadan önce	IL1β, IL-8 ve IL-6	Katılımcılara başlangıçta toplama konusunda eğitim verilmiştir ve ardından önerilen zaman noktalarında tükürük toplama yardımcısı (Saliva Biol) ile birlikte 2 ml'lik bir toplama şişesine pasif olarak salya akıtmaları istenmiştir.	Uyandıktan hemen sonra ve 30 dk sonra ölçülen IL-1β seviyeleri diğer örneklem zamanlarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. IL-6 ve IL-8 seviyeleri uyandıkları anda en yüksek seviyede ölçüldüğü bildirilmiştir.
Xie ve ark. (2022)[213]	30/25 ± 1 yaş	-/ 07.00,10.00, 16.00 ve 20.00	alfa-amilaz, pH, tükürük akış hızı ve kortizol	Katılımcılar örneklemeden bir saat önce yeme, içme, egzersiz, diş macunu kullanma ve sakız çiğnemeden kaçınmaları istenmiştir. Tüm veri toplama işlemi laboratuvar ortamında gerçekleşmiş ve katılımcıların günlük rutinleri takip edilmiştir. Uyarılmamış ve uyarılmış numuneler, asitli uyarandan önce ve sonra, üçer dakika Salivette® swab kullanılarak toplanmıştır.	Sitrik asit stimülasyonundan önce ve sonra alfa-amilaz, pH, tükürük akış hızı ve kortizol seviyesinde sirkadiyen dalgalanmalar gösterilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma onayı, Gazi Üniversitesi Diş hekimliği Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan alınan 07.10.2021 tarih ve E.21071282-050.99-186386 sayılı karar ile kabul edilmiştir (EK-1).

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya, 1 Ağustos ve 30 Ekim 2022 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na çeşitli periodontal şikayetler veya kontrol amacıyla başvuran, dahil edilme kriterlerini karşılayan ve çalışmaya katılmayı kabul eden bireyler, çalışma öncesinde araştırmanın amacı ve yöntemi anlatılıp, katılım için yazılı onamları alındıktan sonra çalışmaya dahil edildiler (EK-2).

Gönüllülerin çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 18 yaşından büyük olmak [41],
- Sistemik olarak sağlıklı olmak [41],
- Gece 00.00'den önce ve günde en az 6 saat uyumak [3].

Gönüllülerin çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

- Hamilelik ve emzirme döneminde bulunmak [45, 50],
- Son 3 ayda enflamatuvar süreci etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanmak [32],
- Tükürük içerik ve akışını değiştirecek, diyabet, sjögren sendromu, parkinson hastalığı, Bell's palsy, kistik fibrozis gibi hastalıkların ve antihipertansif, antihistaminik antiepileptik, sedatif, antidepresan gibi ilaç kullanımın bulunması [32],
- Son 3 ay içinde lokal veya sistemik antibiyotik kullanmak [32, 49],
- 6 ay içerisinde herhangi bir periodontal tedavi görmüş olmak [49],
- Ortodontik tedavi görüyor olmak [45],
- Sigara içmek [49],
- Kemoterapi, radyoterapi ya da immünsupresif tedavi görmüş olmak [32],
- Bireylerin herhangi bir madde bağımlılıklarının olması [49],
- Hastaların akut ağrısı (pulpitis ve apikal apse) olması [45, 213],

- 6 ay içerisinde COVİD-19 geçirmiş olmak ve COVİD-19'a bağlı bir ilaç kullanmak [216],
- Gece vardiyasında çalışmak, gece nöbeti tutmak [3],
- Son 1 ay içerisinde jet laga sebep olan bir yolculuk yapmış olmak [20],

3.2. Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması

Çalışmaya dahil edilecek gönüllü sayısının belirlenebilmesi için güç analizi yapıldı. %91 istatistiksel güç elde edilebilmesi için (Şekil 3.1), periodontal olarak sağlıklı ve periodontitis teşhisi konulan gruplara çalışma dahil edilme kriterlerine uygun olarak 20'şer gönüllünün dahil edilmesi planlandı.

Advanced Repeated Measures ANOVA Power Analysis

Results for Factor W (Levels =4)

Test	Power	n	N	By	Multiply Means (Sm)	SD of Effects (Sigma)	Standard Deviation Effect Size	Alpha	Beta
GG F	0,7999	15	30	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,2001
Wilks	0,7259	15	30	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,2741
GG F	0,8294	16	32	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,1706
Wilks	0,7635	16	32	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,2365
GG F	0,8552	17	34	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,1448
Wilks	0,7970	17	34	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,2030
GG F	0,8775	18	36	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,1225
Wilks	0,8265	18	36	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,1735
GG F	0,8968	19	38	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,1032
Wilks	0,8524	19	38	1,00	0,22	0,35	0,62	0,0500	0,1476
GG F	**0,9134**	**20**	**40**	**1,00**	**0,22**	**0,35**	**0,62**	**0,0500**	**0,0866**

Şekil 3.1. Gönüllü sayısının belirlenebilmesi için yapılan güç analizi

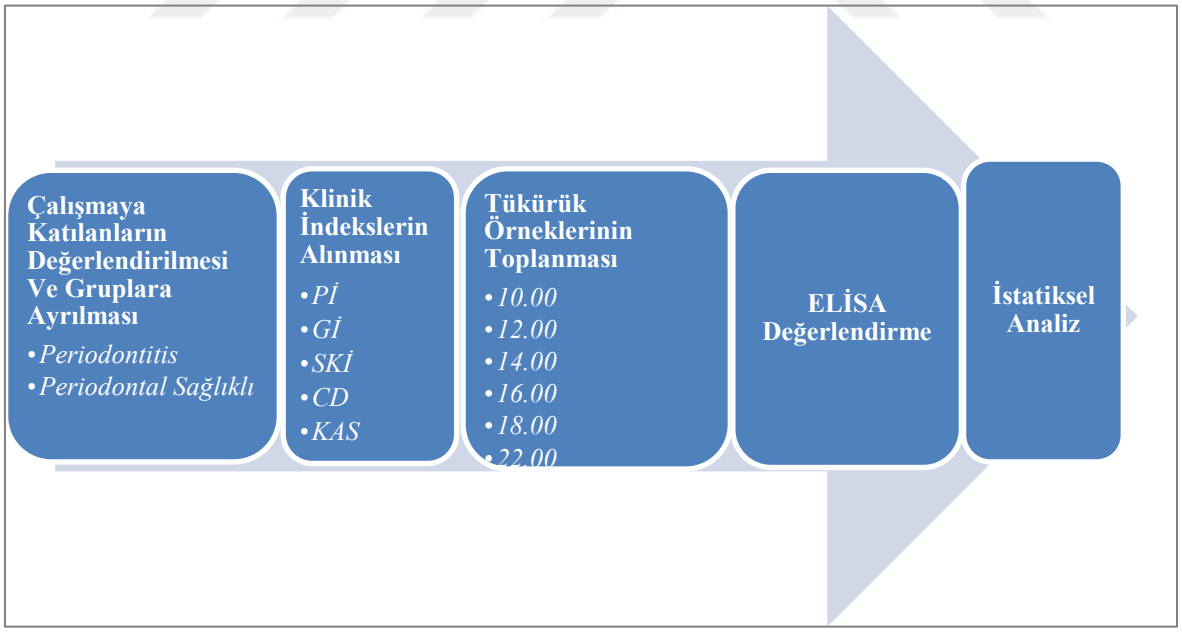
3.3. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

Çalışmada yer alan katılımcıların periodontal durumları, 2017 yılında Avrupa Periodontoloji Federasyonu ve Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından yayımlanan periodontal ve peri-implant hastalıklar ve durumların sınıflandırılması ve kriterleri esas alınarak belirlendi [87, 217].

Periodontal olarak sağlıklı grup; 3 mm'den yüksek cep derinliği, klinik ataşman kaybı ve radyografik alveolar kemik kaybı olmayan ve sondlamada kanaması %10'dan az olan bireylerden oluşturuldu. Periodontitis grubu; komşu olmayan en az 2 dişte interdental alanda ataşman kaybına sahip, klinik ve radyografik olarak evre 3 (≥5mm interdental klinik ataşman kaybı bulunması ve periodontitis kaynaklı ≤4 diş kaybı olması) veya 4 (≥5mm interdental klinik ataşman kaybı bulunması ve periodontitis kaynaklı ≥5 diş kaybı olması) periodontitis teşhisi konulan hastalardan oluşturuldu.

3.4. Çalışma Planı

Katılımcılardan alınan anamnezler kişisel olgu rapor formlarına (EK-3), araştırma akış şemasına (Şekil 3.2) uygun bir şekilde kaydedildi. Hastaların demografik bilgileri (yaş, cinsiyet vs.), en son periodontal tedavi tarihi, diş fırçalama ve arayüz temizliği kullanım sıklığı öğrenildi ve kaydedildi. Ayrıca çalışma düzeni, uyku düzeni, sigara içip içmediği, COVİD-19 hastalığına yakalanma ve buna bağlı bir ilaç kullanma durumları, sistemik hastalığı olup olmadığı ve ilaç kullanım bilgileri olgu rapor formlarına kaydedildi.



Şekil 3.2. Akış şeması

Araştırmaya katılan bireylerin periodontal ölçümleri aşağıdaki klinik indeksler rehber alınarak değerlendirildi:

- Plak indeksi (Pİ) (Silness ve Löe, 1964)[218]
- Gingival indeks (Gİ) (Löe ve Silness 1963)[219]
- Sondlamada kanama indeksi (SKİ) (Ainoma ve Bay, 1975)[220]
- Sondlanabilen cep derinliği (CD)
- Klinik ataşman seviyesi (KAS)

3.5. Periodontal Değerlendirme

Çalışmaya katılan bireylerin, 3.büyükazı dişler harici tüm dişlerinin bukkal, mezial, distal ve palatinal/lingual olmak üzere dört yüzeyinde Williams periodontal sondu (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) kullanılarak klinik ölçümleri yapıldı. Her katılımcının ölçümler sonrasında ortalama değerleri hesaplandı.

3.5.1. Plak indeksi (Pİ) (Silness ve Löe, 1964)

Çalışmaya dahil edilen bireylerin serbest dişeti marjini boyunca yer alan plak miktarını ölçmek ve oral hijyen durumunu belirlemek amacıyla kullanıldı. Dişlerin dört yüzeyi (bukkal, palatinal/lingual, mezial, distal) periodontal sond yardımıyla ve gözle değerlendirildi. Silness ve Löe (1964) plak indeksi skorlarına göre kayıtlar alındı (Çizelge 3.1) [218].

Çizelge 3.1. Silness ve Löe'nin plak indeks skorları

Skor 0	Gözle muayenede ve sonda ile kazındığında dişeti kenarında plak yok.
Skor 1	Göz ile dişin yüzeyinde bakteri plağı görülmemekte fakat sondlama işleminden sonra sondun ucunda bakteri plağı izlenmektedir.
Skor 2	Dişeti bölgesi ince ve orta düzeyde bakteri plağı ile kaplıdır ve bu birikinti gözle seçilebilmektedir.
Skor 3	Dişeti oluğunu ve interdental alanı tamamen dolduran, fazla miktarda yumuşak birikinti vardır.

Her birey için ortalama plak indeksi değeri hesaplandı:
Ortalama Pİ = (Tüm yüzeylerin Pİ toplamı) / (Diş sayısı x 4)

3.5.2. Gingival indeks (Gİ) (Löe ve Silness, 1963)

Bireylerin gingival inflamasyon düzeylerini belirlemek için dişlerin dört yüzeyindeki (mezial, distal, bukkal, palatinal/lingual) dişetleri periodontal sond yardımıyla

değerlendirildi. Löe ve Silness'in (1963) gingival indeks skorlarına göre kayıtlar alındı (Çizelge 3.2) [219].

Çizelge 3.2. Löe ve Silness'in gingival indeks skorları

Skor 0	Sağlıklı dişeti
Skor 1	Sondlamada kanama olmaksızın ödem varlığı, hafif inflamasyon, hafif renk değişikliği gözlenir.
Skor 2	Dişetinde orta derecede inflamasyon, hiperemi ve ödem vardır; sondla temas sonrası kanama gözlenir.
Skor 3	Şiddetli iltihap, belirgin kırmızılık ve ödem vardır. Ülserasyonlar ve spontan kanamaya meyil mevcuttur.

Aşağıda verilen formül ile her birey için ortalama gingival indeks değeri elde edildi:
Ortalama Gİ = (Tüm yüzeylerin Gİ toplamı) / (Diş sayısı x 4)

3.5.3. Sondlamada kanama indeksi (SKİ) (Ainoma ve Bay, 1975)

Dişlerin dört yüzeyinde (bukkal, palatinal/lingual, mezial, distal), periodontal sondun gingival sulkus içerisinde gezdirilmesinin ardından 30 sn bekledikten sonra kanama durumu değerlendirildi. Kanama var (+) veya kanama yok (-) olarak kaydedildi [220]. Sonuçlar yüzde (%) olarak ifade edildi. Her birey için aşağıda verilen formül ile ortalama sondlamada kanama değeri saptandı:

Ortalama SKİ = (Tüm SKİ (+) olan yüzeylerin toplamı x 100) / (Diş sayısı x 4)

3.5.4. Cep derinliği (CD)

Periodontal sond dişin uzun aksına paralel tutulup, dişin mezial, distal, bukkal ve palatinal/lingual olmak üzere dişin dört noktasından en fazla 20-25 g (0.20–0.25 N) kuvvet olacak şekilde cep içerisine yerleştirilerek; dişeti kenarından dişeti oluğu tabanına kadar olan mesafenin milimetre (mm) olarak ölçümü yapıldı [221]. Her birey için aşağıdaki formül ile ortalama cep derinliği değeri saptandı:

Ortalama CD = (Tüm yüzeylerin CD toplamı) / (Diş sayısı x 4)

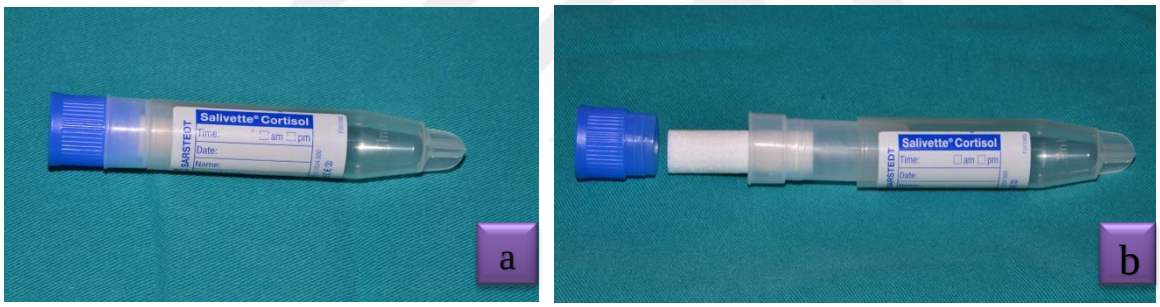
3.5.5. Klinik ataşman seviyesi (KAS)

Mine-sement sınırı ile cep tabanı arasındaki mesafe milimetre (mm) cinsinden ölçülerek kaydedildi. Her diş mezial, distal, bukkal ve palatinal olmak üzere dişin dört noktadan ölçülmesi ile gerçekleştirildi [222].

Ortalama KAS = (Tüm yüzeylerin KAS toplamı)/(Diş sayısı x 4)

3.6. Tükürük Örneklerinin Toplanması

Tükürük örneği alınırken standartizasyonu sağlamak için Salivette® Cortisol tüp (Sarstedt, Nümbrecht, Almanya) kullanıldı (Resim 3.1) [39, 156, 215, 223]. Salivette® Cortisol, uyarılmamış tükürük örneklerini toplamak için ticari olarak hazırlanmış steril standart normal polietilen tampon içeren plastik kapaklı tüplerden oluşmaktadır.



Resim 3.1. a) Salivette® Cortisol görünüm; b) Salivette® Cortisol tüp içerindeki standart steril polietilen rulonun görünümü

Tükürük numuneleri toplanmadan önce Salivette® Cortisol tüplerin üzerindeki etiketlere örnekleme saatleri (10.00-12.00-14.00-16.00-18.00 ve 22.00) yazıldı. Mesai saatleri içindeki numune alımları (10.00-12.00-14.00-16.00) hekim kontrolünde katılımcılar tarafından yapıldı. Mesai saati dışındaki örneklerin gönüllülere gerekli sözlü ve yazılı bilgilendirmeler yapılıp (18.00 ve 22.00) gönüllüler tarafından alınmaları istendi. Gönüllüler tükürük örneği toplamadan en az 1 saat önce bir şey yiyip içmemeleri, dişlerini fırçalamamaları ve sakız çiğnememeleri konusunda uyarıldı [213]. Örnek alınmadan 10 dk önce ağızlarını şebeke suyuyla durulamaları istendi [215, 223]. Katılımcılara tükürük örneklerini aydınlık bir ortamda ve oturur pozisyonda toplaması gerektiği söylendi [142]. Tükürük örnekleri alınırken Salivette® Cortisol'ün kapağını açıp tamponu ellerine almadan ağızlarına koymaları ve 5 dakika çiğnemeden dillerinin altında tutmaları istendi. Herhangi bir

kontaminasyonu önlemek için katılımcıların ağızlarındaki tükürüklü tamponu ellerini kullanmadan, dudaklarını kullanarak Salivette® Cortisol tüpün içine koymaları istendi. Katılımcıların evde aldıkları numuneleri 4°C de buzdolabında saklamaları ve kendilerine tarafımızdan sağlanan soğuk transfer kabıyla bize ulaştırmaları talimatı verildi. Toplanan bütün örnekler çalışma tarihine kadar -20 °C saklandı.

3.7. ELİSA Değerlendirme

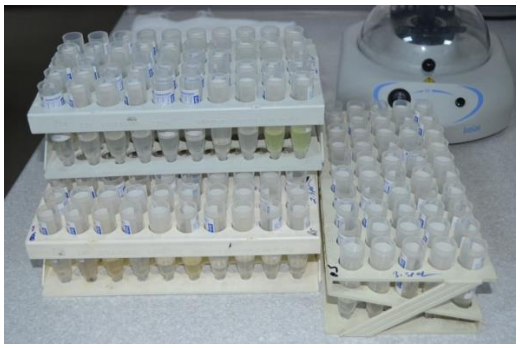
Tüm örnekler çalışmaya başlamadan; Fosfat Tamponlayıcı Saline tablet (PBS)(BioShop, Burlington, Canada) (pH: 7,4) kullanılarak 100 ml distile suya 1 tablet atılarak hazırlanan PBS solüsyonu ile final hacmi 100 mikrolitre olacak şekilde sulandırılmıştır.

Tükürükte IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve kortizol düzeylerinin tespiti için kullanılan ELİSA kitleri şunlardır:

- IL-1β (Sunred Biological Technology Co., Ltd. Şangay, Çin, hassasiyet: 15,013 pg\ml)
- TNF-α (Sunred Biological Technology Co., Ltd. Şangay, Çin, hassasiyet: 2,827 pg\ml)
- MMP-8 (Sunred Biological Technology Co., Ltd. Şangay, Çin, hassasiyet: 0,041 ng\ml)
- Kortizol (Diametra S.r.l, Spello, İtalya, hassasiyet:0,12 ng\ml)

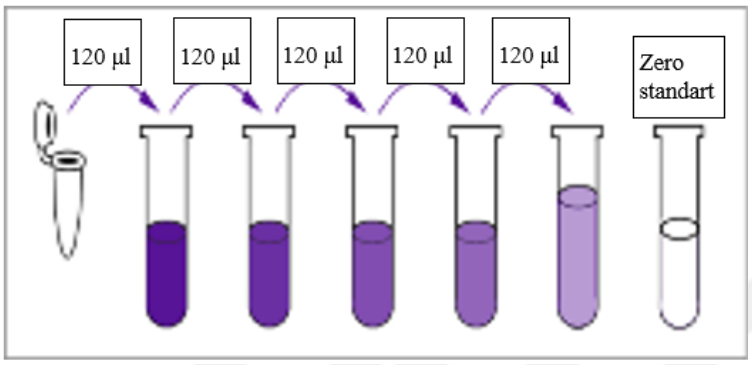
IL- 1β, TNF-α, MMP-8 ELİSA kitleri üretici firmanın hazırladığı kullanma kılavuzuna göre çalışıldı:

1. Tüm örnekler ve solüsyonlar oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi (Resim 3.2).



Resim 3.2. Örneklerin sıralanması ve oda sıcaklığında bekletilmesi

2. Kullanılacak tamponlar, standartlar, reaktifler ve yıkama solüsyonları kitin kullanım talimatlarına uygun olarak hazırlandı.
3. Standart solüsyonları oluşturmak için kitte belirlenen oranlarda ve 6 kez dilüsyonları yapıldı. Eppendorf tüplerine 120 µl hacminde referans standart ve örnek dilüsyon eklendi (Şekil 3.3).

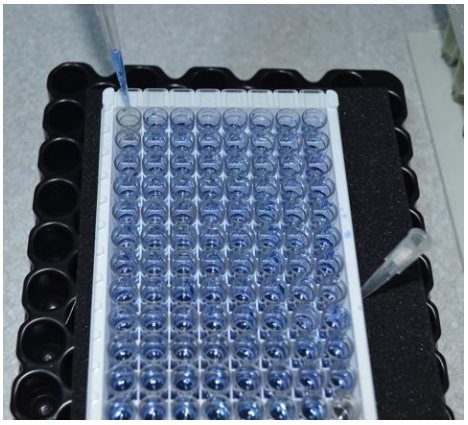


Şekil 3.3. Standart solüsyon hazırlanması için protokolü

4. Örnekler üretici firma talimatlarına göre 40 µl hacminde mikrokuyucuklara aktarıldı. Standart kuyucuklar dışındaki tüm örneklerin bulunduğu kuyucuklara 10 µl sitokinlere ait antibodiler konuldu.
5. Daha sonra boş standart hariç tüm kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP solüsyonu ilave edilip karıştırıldı. Plaklar yapışkan bir bant ile kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
6. Plaklar inkübasyon sonrası yıkayıcı solüsyon ile 30 kez yıkandı.
7. Tüm kuyucuklara önce 50 µl substrat A solüsyonu, sonrasında 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Plaklar tekrar bant ile kapatılıp, 10 dakika 37°C'de karanlıkta inkübe edildi.
8. İnkübasyon sonrası tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyon eklenerek reaksiyona son verildi ve kuyucuklardaki mavi rengin hızla sarıya dönüştüğü gözlendi.

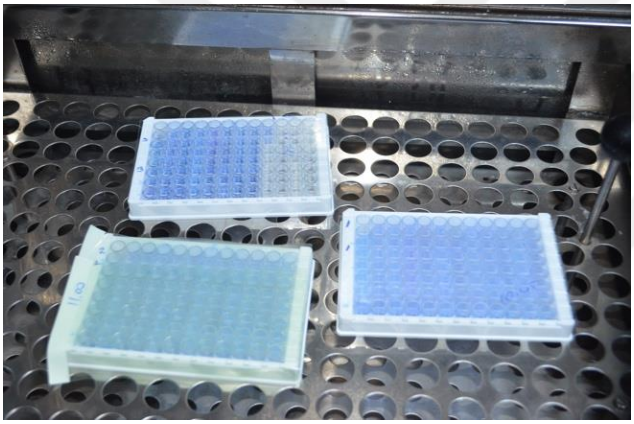
Tükürük kortizol ELİSA protokolü:

1. 25 µl standart, kontrol ve numuneler kuyucuklara pipetlendi.
2. 200 µl enzim konjugatı her kuyucuğa eklenerek, 37 °C'de 1 saat inkübe edildi.
3. Kuyucuklar 300 µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Kurulama kâğıdı ile kurulandı.
4. Her kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonu eklendi (Resim 3.3).



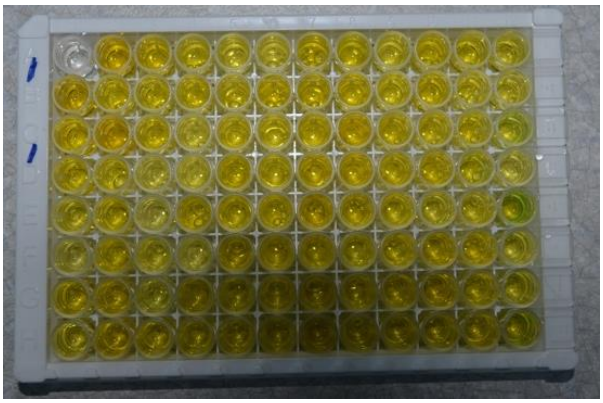
Resim 3.3. Substrat eklendikten sonra görünüm

5. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi (Resim 3.4).



Resim 3.4. Oda sıcaklığında inkübasyon görünüm

6. Kuyucuklara 100 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyona son verildi (Resim 3.5).



Resim 3.5. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra görünüm

Çalışmalar sonucunda ELİSA plakları ELİSA reader cihazında (Synergy HT, Biotek Instruments, Vermonts, ABD) kitin önerdiği uygun optik dansite (450-600 nm) aralıklarında okutuldu. Uygun software (Microsta) programı ile hesaplamalar yapıldı.

3.8. İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS Statistics Standard Concurrent User V 26 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler birim sayısı (*n*), yüzde (%), ortalama ± standart sapma (*Ort*±*SS*), medyan (*M*), minimum (*min*) ve maksimum (*max*) değerler olarak verildi. Sayısal değişkenlere ait verilerin normal dağılımı Shapiro Wilk normallik testi ile değerlendirildi. Sayısal tanımlayıcı özellikler ve değişkenler normal dağılım gösterdiği için parametrik testler kullanıldı. Hastalara ait sayısal tanımlayıcı özellikleri ve klinik indekslerin gruplar arası karşılaştırılmasında bağımsız örneklerde *t* test, kategorik tanımlayıcı özelliklerin gruplar arası karşılaştırılmasında ki-kare testlerinden (Pearson kikare/Fisher exact test) yararlanıldı. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon katsayısı ile değerlendirildi. Periodontal duruma göre IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve kortizol değişkenlerinin izlem zamanlarına göre karşılaştırılmasında Karışık düzen varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Analizlerde ana etkilerin karşılaştırılmasında Bonferroni düzeltmesi uygulandı. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan periodontal sağlıklı ve periodontitisli bireylerin demografik bilgiler incelendi ve Çizelge 4.1'de özetlendi. Çalışmada periodontitis grubunda 20 ve sağlıklı grubunda 20 olmak üzere toplam 40 gönüllü yer aldı. Erkek sayısının periodontitis grubunda 10 (%50) kişi ve kontrol grubunda 11 (%55) kişi olduğu görüldü. Bireylerin cinsiyete göre gruplara dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p>0,05). Yaş ortalamaları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Günlük ağız bakım alışkanlıklarının anlaşılması için bireylerin fırçalama sıklığı incelendi. Periodontitisli gruptaki bireylerin %55'nin günde 1 defa, %30'unda günde 1 defadan az dişlerini fırçaladığı görülürken; periodontal sağlıklı bireylerin %90'ının günde en az 2 defa fırçalama sıklığına sahip olduğu saptandı.

Çizelge 4.1. Gönüllülerin tanımlayıcı özelliklerinin gruplara göre karşılaştırılması (N=40)

	Periodontal Durum		Test İstatistikleri	
	Periodontitis n=20	Sağlıklı n=20	Test Değeri	p
Cinsiyet				
Erkek	10 (%50)	11 (%55)	0,100 †	0,752
Kadın	10 (%50)	9 (%45)		
Yaş				
Ort±SS	39,85±8,34	35,45±9,26	1,578 ‡	0,123
M (min-max)	39 (24-55)	35 (22-57)		
Fırçalama Sıklığı				
Günde 1'den az	6 (%30)	0 (%0)	**22,945** †	**<0,001**
Günde 1	11 (%55)	2 (%10)		
Günde 2-3	3 (%15)	18 (%90)		

‡: Bağımsız Örneklem *t* Test (*t*); †: Ki Kare Testi (χ^2); Özet istatistikler sayısal veriler için *ortalama* ± *standart sapma* ve *Medyan* (*minimum, maksimum)*, kategorik veriler için *Sayı (Yüzdelik)* değer olarak verilmiştir.

4.1. Klinik Bulgular

Tüm ağıza ait klinik periodontal bulgular incelendi ve Çizelge 4.2' de özetlendi. Periodontitis ve sağlıklı gruplar karşılaştırıldığında; plak indeksi, gingival indeksi, kanama indeksi, cep derinliği ve klinik ataşman seviyesi ortalamaları periodontitis grubunda periodontal sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edildi (p<0,001).

Çizelge 4.2. Periodontal klinik indeks değerleri (*N*=40)

	Periodontal Durum		Test İstatistikleri	
	Periodontitis *n*=20	Sağlıklı *n*=20	Test Değeri	p
Plak indeksi				
Ort±SS	1,37±0,32	0,19±0,12	**15,344** ‡	**<0,001**
M (min-max)	1,4 (0,6-2)	0,2 (0,1-0,5)		
Gingival indeksi				
Ort±SS	1,47±0,33	0,23±0,10	**15,602** ‡	**<0,001**
M (min-max)	1,5 (0,8-2,1)	0,2 (0-0,4)		
Kanama indeksi (%)				
Ort±SS	51,50±21,94	4,29±3,32	**9,515** ‡	**<0,001**
M (min-max)	47 (22-100)	2,9 (0,9-9,8)		
Cep derinliği (mm)				
Ort±SS	3,26±0,68	1,50±0,17	**11,286** ‡	**<0,001**
M (min-max)	3,1 (2-4,7)	1,5 (1,3-1,9)		
Klinik ataşman seviyesi (mm)				
Ort±SS	3,37±0,71	1,50±0,17	**11,409** ‡	**<0,001**
M (min-max)	3,2 (2,1-4,8)	1,5 (1,3-1,9)		

‡: Bağımsız Örneklem *t* Test (*t*); Özet istatistikler *ortalama* ± *standart sapma* ve *Medyan* (*minimum, maksimum)* değer olarak verilmiştir.

4.2. Laboratuvar Bulguları

Çalışma gruplarına ait uyarılmamış tükürük örnekleri içerisinde IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve kortizol seviyeleri ELİSA yöntemiyle değerlendirildi. Elde edilen veriler, her grup içerisinde incelenen altı farklı örnekleme zamanı (10.00, 12.00, 14.00, 16.00, 18.00, 22.00) arasında ve gruplar arasında her biyobelirteç için ayrı ayrı incelendi.

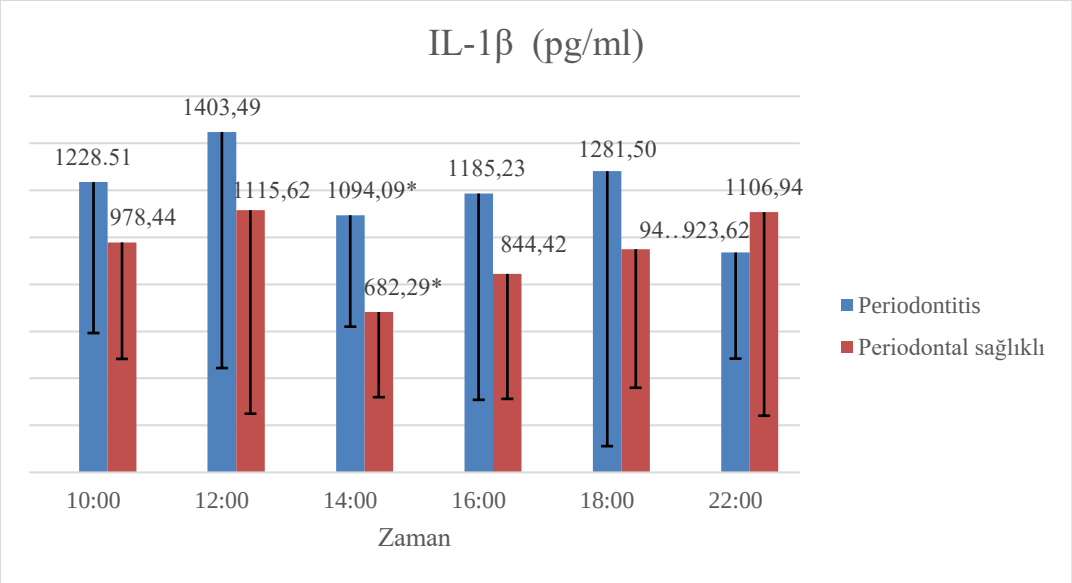
4.2.1. Tükürük IL-1β düzeyleri

Çizelge 4.3'te gruplara göre tükürük IL-1β değerleri ve izlem zamanlarında bu değerlerin karşılaştırılması özetlendi. Gönüllülerin 10.00, 12.00, 16.00, 18.00 ve 22.00 izlem zamanlarında alınan IL-1β ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). 14.00 izlem zamanında periodontitis grubundan alınan ölçümler sağlıklı grubundan istatistiksel olarak yüksekti ($p<0,05$). Periodontitis ve sağlıklı grubunda ise grup içi istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 4.1).

Çizelge 4.3. Gruplara göre IL-1β (pg/ml) örneklem zamanlarının incelenmesi (*N*=40)

Örneklem Zamanı	Periodontal Durum		Test İstatistikleri †		
	Periodontitis *n*=20	Sağlıklı *n*=20	*F*	*p*	η^2
10.00	1228,51±642,091 ^{a}	978,44±495,611 ^{ab}	1,901	0,176	0,049
12.00	1403,49±1004,531 ^{a}	1115,62±865,841 ^{ab}	1,223	0,276	0,032
14.00	1094,09±474,11 ^{a}	682,29±362,291 ^{b}	**9,348**	**0,004**	**0,202**
16.00	1185,23±877,571 ^{a}	844,42±531,641 ^{ab}	2,107	0,155	0,054
18.00	1281,50±1169,751 ^{a}	949,71±589,581 ^{ab}	1,271	0,267	0,033
22.00	923,62±451,121 ^{a}	1106,94±865,901 ^{ab}	0,588	0,448	0,016
Test İstatistikleri ϕ	*F*=1,965 *p*=0,110 η^2=0,229	*F*=2,061 *p*=0,095 η^2=0,238			

F: Karışık Desen ANOVA (*F*), Etki Büyüklüğü (η^2), ϕ Gruplar içi karşılaştırma, †Gruplar arası karşılaştırma, Özet istatistikler *ortalama* ± *standart sapma* değer olarak verilmiştir. Koyu olarak belirlenen bölümler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05). *a*>*b*: Aynı satırdaki farklı harf veya harf kombinasyonları istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (*p*<0.05).



Şekil 4.1. Periodontal sağlıklı ve periodontitisli gruplarda IL-1β düzeylerinin karşılaştırılması

4.2.2. Tükürük TNF-α düzeyleri

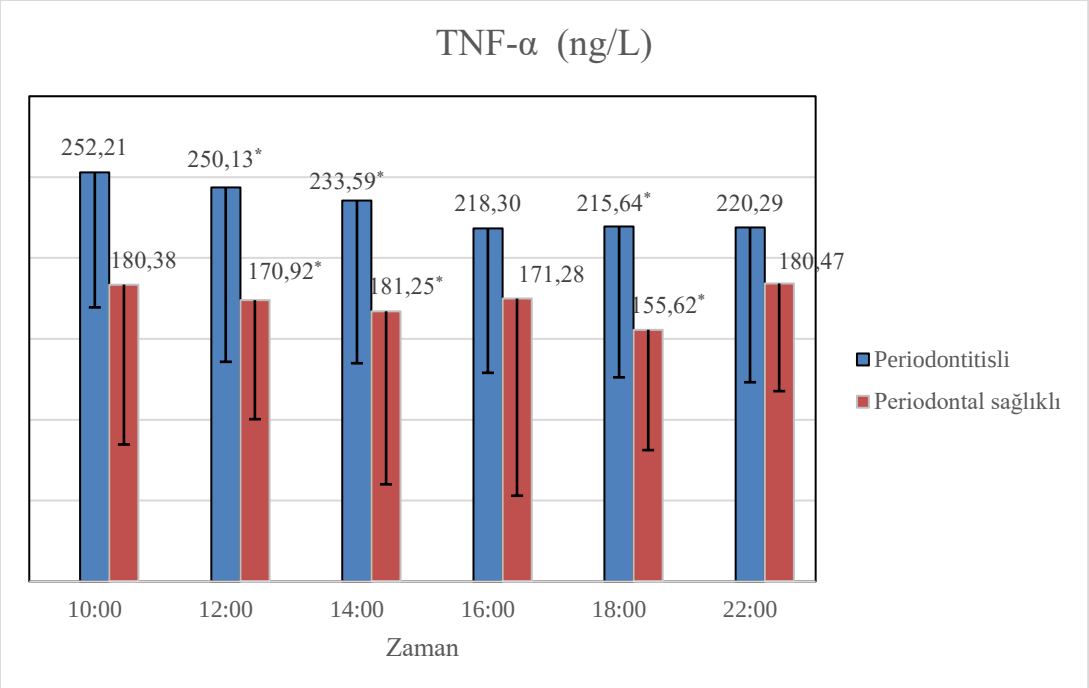
Çalışma gruplarına ait tükürük TNF-α seviyeleri Çizelge 4.4'te özetlenmiştir. Gönüllülerin 10.00, 16.00 ve 22.00 izlem zamanlarında alınan TNF-α ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (*p*>0,05). 12.00, 14.00 ve 18.00 izlem

zamanlarında periodontitis grubundan alınan ölçümler sağlıklı grubundan istatistiksel olarak yüksekti (p<0,05) (Şekil 4.2). Periodontitis ve sağlıklı grubunda ise grup içi istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0,05).

Çizelge 4.4. Gruplara göre TNF-α (ng/L) örneklem zamanlarının incelenmesi (N=40)

Örneklem Zamanı	Periodontal Durum		Test İstatistikleri †		
	Periodontitis n=20	Sağlıklı n=20	F	p	η^2
10.00	252,21±83,411 ^{a}	180,38±98,841 ^{ab}	4,240	0,058	0,087
12.00	250,13±107,831 ^{a}	170,92±73,561 ^{b}	**5,465**	**0,025**	**0,132**
14.00	233,59±100,631 ^{a}	181,25±106,941 ^{b}	**4,849**	**0,034**	**0,119**
16.00	218,3±89,291 ^{a}	171,28±121,861 ^{ab}	1,533	0,224	0,041
18.00	215,64±93,311 ^{a}	155,62±74,421 ^{b}	**5,382**	**0,026**	**0,130**
22.00	220,29±95,661 ^{a}	180,47±66,551 ^{ab}	1,625	0,211	0,043
Test İstatistikleri ϕ	F=0,491 p=0,78 η^2=0,071		F=0,286 p=0,917 η^2=0,043		

F: Karışık Desen ANOVA (F), Etki Büyüklüğü (η^2), ϕ Gruplar içi karşılaştırma, †Gruplar arası karşılaştırma, Özet istatistikler *ortalama* ± *standart sapma* değer olarak verilmiştir. Koyu olarak belirlenen bölümler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05). a>b: Aynı satırdaki farklı harf veya harf kombinasyonları istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0.05).



Şekil 4.2. Periodontal sağlıklı ve periodontitisli gruplarda TNF-α düzeylerinin karşılaştırılması

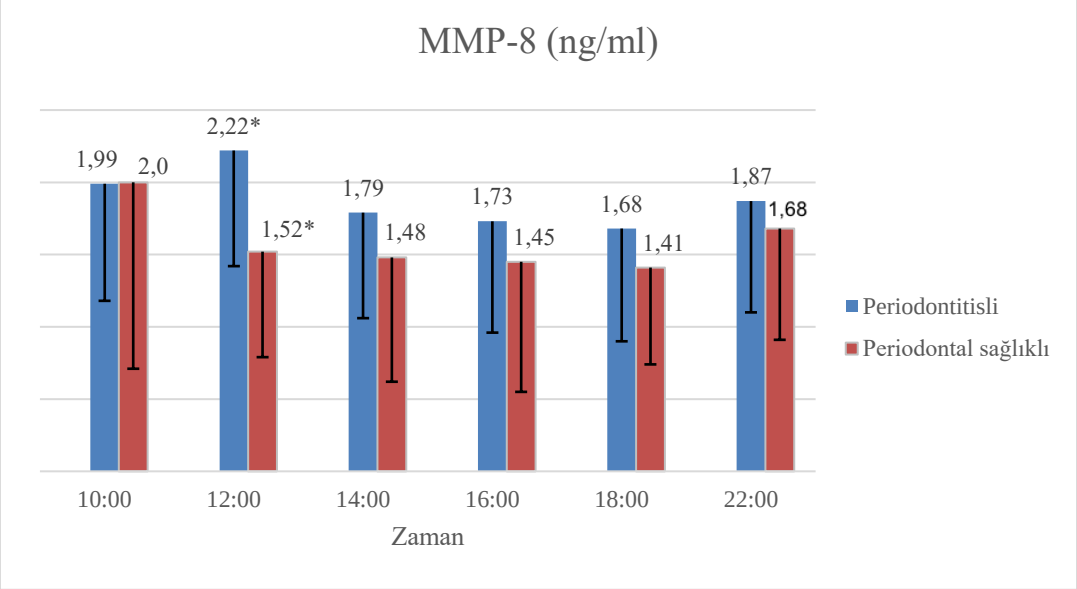
4.2.3. Tükürük MMP-8 düzeyleri

Çizelge 4.5'te gruplara göre tükürük MMP-8 değerleri ve izlem zamanlarında bu değerlerin karşılaştırılması özetlendi. Gönüllülerin 10.00, 14.00, 16.00, 18.00 ve 22.00 izlem zamanlarında alınan MMP-8 ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05). 12:00 izlem zamanında periodontitis grubundan alınan ölçümler sağlıklı grubundan istatistiksel olarak yüksekti (p<0,05). Periodontitis ve sağlıklı grubunda ise grup içi istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0,05) (Şekil 4.3).

Çizelge 4.5. Gruplara göre MMP-8 (ng/ml) örneklem zamanlarının incelenmesi

Örneklem Zamanı	Periodontal Durum		Test İstatistikleri †		
	Periodontitis n=20	Sağlıklı n=20	F	p	η^2
10.00	1,99±0,81 ^{ab}	2,00±1,29 ^{ab}	0,001	0,973	0,000
12.00	2,22±0,79 ^{a}	1,52±0,73 ^{b}	**9,395**	**0,004**	**0,202**
14.00	1,79±0,73 ^{ab}	1,48±0,86 ^{ab}	1,509	0,227	0,039
16.00	1,73±0,77 ^{ab}	1,45±0,90 ^{ab}	0,970	0,331	0,026
18.00	1,68±0,78 ^{ab}	1,41±0,67 ^{ab}	1,365	0,250	0,036
22.00	1,87±0,77 ^{ab}	1,68±0,77 ^{ab}	0,319	0,576	0,009
Test İstatistikleri ϕ	F=1,670 p=0,169 η^2=0,202	F=0,967 p=0,452 η^2=0,128			

F: Karışık Desen ANOVA (F), Etki Büyüklüğü (η^2), ϕ Gruplar içi karşılaştırma, †Gruplar arası karşılaştırma, Özet istatistikler *ortalama* ± *standart sapma* değer olarak verilmiştir. Koyu olarak belirlenen bölümler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05). a>b: Aynı satırdaki farklı harf veya harf kombinasyonları istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0.05).



Şekil 4.3. Periodontal sağlıklı ve periodontitisli gruplarda MMP-8 düzeylerinin karşılaştırılması

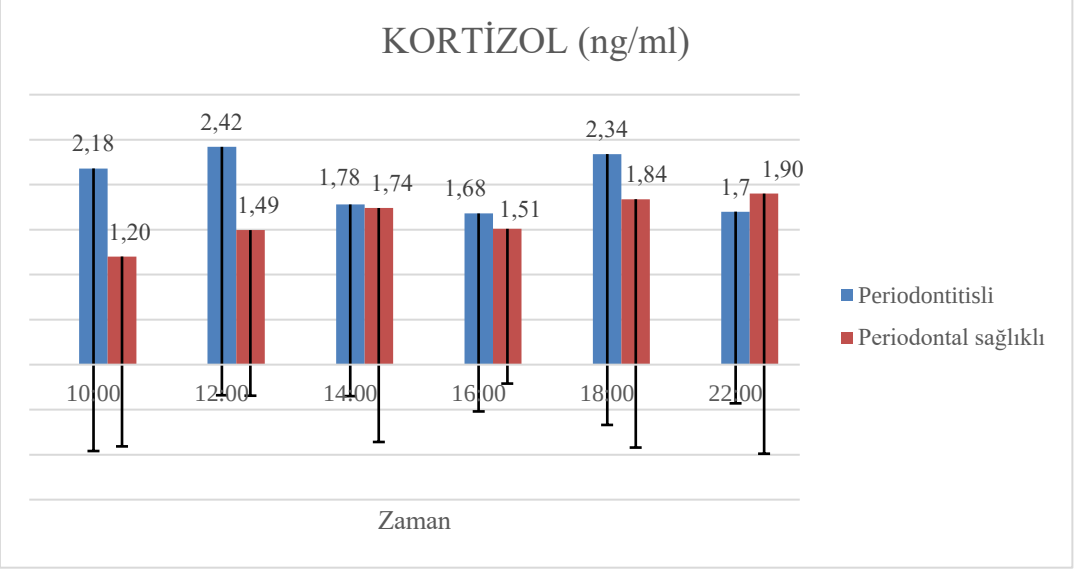
4.2.4. Tükürük kortizol düzeyleri

Çizelge 4.6'te gruplara göre kortizol değerleri ve izlem zamanlarında bu değerlerin karşılaştırılması özetlendi. Grup içi ve gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda tükürük kortizol açısından istatistiksel anlamlı bir fark izlenmedi (p>0,05) (Şekil 4.4).

Çizelge 4.6. Gruplara göre kortizol (ng/ml) örneklem zamanlarının incelenmesi

Örneklem Zamanı	Periodontal Durum		Test İstatistikleri †		
	Periodontitis n=20	Sağlıklı n=20	F	p	η^2
10.00	2,18±3,14	1,20±2,11	1,346	0,253	0,034
12.00	2,42±2,76	1,49±1,84	1,562	0,219	0,039
14.00	1,78±2,13	1,74±2,6	0,002	0,963	0,000
16.00	1,68±2,20	1,51±1,72	0,071	0,792	0,002
18.00	2,34±3,01	1,84±2,76	0,302	0,586	0,008
22.00	1,70±2,13	1,9±2,89	0,063	0,803	0,002
Test İstatistikleri ϕ	F=0,543 p=0,740 η^2=0,074		F=0,228 p=0,948 η^2=0,032		

F: Karışık Desen ANOVA (F), Etki Büyüklüğü (η^2), ϕ Gruplar içi karşılaştırma, †Gruplar arası karşılaştırma, Özet istatistikler *ortalama* ± *standart sapma* değer olarak verilmiştir.



Şekil 4.4. Periodontal sağlıklı ve periodontitisli gruplarda kortizol düzeylerinin karşılaştırılması

4.2.5. Laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

Çizelge 4.7'ye göre tüm örneklemde IL-1β ile TNF-α ve MMP-8 arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (p<0,05). TNF-α ile MMP-8 arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p<0,05).

Periodontitisli bireylerde IL-1β ile TNF-α ve Kortizol arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı ilişki görüldü (p<0,05). TNF-α ile MMP-8 arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (p<0,05).

Periodontal sağlıklı bireylerde IL-1β ile TNF-α ve MMP-8 arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (p<0,05). TNF-α ile MMP-8 arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p<0,05).

Çizelge 4.7. Tükürük IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve Kortizol değerleri arasındaki korelasyon incelemesi (N=40)

		IL-1β (pg/ mL)	TNF-α (ng/ mL)	MMP-8 (ng/ ml)
Tüm Örneklem N=40	**TNF-α (ng/ mL)**	**rho=0,335 p<0,001**		
	MMP-8 (ng/ ml)	**rho=0,237 p<0,001**	**rho=0,460 p<0,001**	
	Kortizol (ng/ ml)	rho=0,118 p=0,069	rho=0,042 p=0,521	rho=-0,033 p=0,613
Periodontitis grubu n=20	**TNF-α (ng/ mL)**	**rho=0,301 p=0,001**		
	MMP-8 (ng/ ml)	rho=0,114 p=0,220	**rho=0,441 p<0,001**	
	Kortizol (ng/ ml)	**rho=0,235 p=0,010**	rho=0,035 p=0,705	rho=-0,032 p=0,732
Sağlıklı grup n=20	**TNF-α (ng/ mL)**	**rho=0,321 p<0,001**		
	MMP-8 (ng/ ml)	**rho=0,337 p<0,001**	**rho=0,450 p<0,001**	
	Kortizol (ng/ ml)	rho=-0,147 p=0,108	rho=-0,044 p=0,635	rho=-0,0986 p=0,300

rho: Pearson korelasyon katsayısı, Koyu olarak belirlenen bölümler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıkların patogenezinin daha iyi anlaşılabilmesi; farklı periodontal tedavi modellerinin etkinliklerinin değerlendirilmesi ve karşılaştırılabilmesi için planlanan bilimsel araştırmalarda tükürük biyobelirteçleri sıklıkla incelenmektedir [42, 144-154]. Tükürük, oral ve sistemik sağlık durumunu yansıtan biyobelirteçleri içeren bir zengin kaynaktır. Tükürük akışı bireyin fizyolojik durumuna bağlı olarak farklılık gösterdiği gibi gün içerisinde de pek çok faktörden etkilenir. Tükürük akış hızı gündüzleri artarken geceleri azalmaktadır [37]. Günlük tükürük akış değişkenliği, sadece akış miktarını değil, aynı zamanda elektrolit ve protein dengesini de etkiler [34, 127]. Tükürük pH değerlerinin geceleri azaldığı, protein değerlerinin artığı görülmüştür. Tükürük kortizol düzeylerinin sabah saatlerinde, melatonin seviyelerinin ise gece saatlerinde zirve değere ulaştığı bildirilmiştir [39-41]. Tükürük akış hızı ve içeriğinin sirkadiyen ritme bağlı olarak değişebildiği düşünülmekle birlikte, konu ile ilgili sınırlı sayıda kanıt bulunmaktadır [37-41, 213, 215]. Tükürük içeriğindeki biyobelirteçler ile ilgili yapılan çalışmalarda, tükürük numunelerinin toplanma saati ile ilgili genel bir konsensus olmadığı görülmektedir [43, 44, 53, 56, 224]. Çalışmaların bazılarında tükürük örneklemelerinin "sabah saat 10.00 civarında" yapıldığı bildirilmiştir [45, 52-56]. Bazı literatürlerde tükürük örneklemelerinin "günün belirli bir zaman diliminde" yapıldığı ifade edilirken [43, 44, 57], bazı literatürlerde ise tükürük örnekleme zamanı ile ilgili hiçbir bilgiye yer verilmediği görülmüştür [58-62]. Ayrıca tükürük örneklerinde yapılan farklı çalışmaların sonuçları birbiriyle karşılaştırılırken, çalışmaların farklı örnek toplama zamanlarına bağlı olarak, sirkadiyen ritmin tükürük içeriği üzerindeki etkisinin ekarte edilmediği görülmektedir. Konu ile ilgili literatürlere baktığımızda uyarılmamış tükürükte periodontal hastalıkların patogenezinin incelenmesinde sıklıkla tercih edilen IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve kortizol biyobelirteç düzeylerinin sirkadiyen ritimden nasıl etkilendiğini gösteren çalışma olmadığı göze çarpmıştır. Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda 6 farklı zaman diliminde periodontitisli ve periodontal sağlıklı bireylerden elde edilen uyarılmamış tükürükte IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve kortizol biyobelirteç düzeylerinin değerlendirilmesi, sirkadiyen ritimin olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamız, literatür bilgimiz dahilinde, periodontitisli ve periodontal sağlıklı bireylerin tükürüklerinde sirkadiyen ritmin etkilerini inceleyen ve karşılaştıran ilk çalışma olarak göze çarpmaktadır.

Periodontal hastalıklar dünya nüfusunun %90'ını etkileyebilen oldukça yaygın bir hastalıktır [71]. Periodontal hastalığın en hafif şekli olan gingivitis, mikrobiyal dental plağa karşı

oluşan bir dişeti inflamasyonudur. Bununla birlikte, gingivitis dişlerin altında yatan destek yapılarını etkilemez ve geri dönüşümlüdür. Periodontal doku yıkımı ile alveolar kemik kaybının görüldüğü ve geri dönüşümsüz bir hastalık olan periodontitis, yetişkinlerde diş kaybının en önemli nedenlerinden birisidir [71]. Periodontitis yaygın olarak yetişkinlerde görülmekle, birlikte çocuklarda ve ergenlerde de görülebilir. Doku yıkımının miktarı genellikle bakteri plağı seviyeleri, konak savunması ve ilgili risk faktörleri ile orantılıdır [74]. Lokal, sistemik ve çevresel risk faktörler, hastalığın oluşması ve klinik şiddeti konusunda belirleyici rol oynayabilmekte ve mikrobiyal dental plağa karşı gelişen konak cevabını direkt olarak etkileyebilmektedir [2, 5, 88].

Mikrobiyal dental plağa karşı konak cevabı olarak monositler ve aktive edilmiş makrofajlar tarafından TNF-α, IL-1β ve IL-6 gibi enflamatuvar yanıtı arttıran proenflamatuvar sitokinler salınır [6, 7]. TNF-α ve IL-1β, fibroblast ve PMN'ler tarafından MMP-8'in salgılanmasını uyarır ve bu durum ekstraselüler matriksin ve alveolar kemiğin yıkımına neden olur [9, 102]. Periodontal hastalıklarda periodontal dokularda meydana gelen inflamasyon ve yıkım esnasında IL-1β, TNF-α ve MMP-8 düzeylerinin değişiklik göstermesi, bu biyobelirteçlerin periodontal hastalıkların teşhis ve takibinde tükürük incelemesini arttırmıştır [102]. Mirrielees ve ark.'ın [51] kronik periodontitisli ve periodontal sağlıklı bireylerde yaptıkları çalışmalarında tükürük IL-1β ve MMP-8 düzeylerinin kronik periodontitisli bireylerde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise şiddetli periodontitis hastalarında periodontal sağlıklı bireylere kıyasla önemli ölçüde daha yüksek tükürük TNF-α seviyeleri bildirilmiştir [43].

Periodontal hastalık açısından yaş ve cinsiyet risk faktörü olarak düşünülmüş ve bununla ilgili yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirmiştir [225-229]. Bazı çalışmalarda [228, 229] yaşlanma ile kemik yıkımı arasında bir ilişki olduğu, bazı çalışmalarda [226, 230] ise iyi oral hijyene sahip bireylerde periodontal hastalık açısından yaşın bir risk faktörü olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca yaşla beraber görülen artmış periodontal yıkım seviyesi ise zamanla oluşan yıkımın kümülatif bir sonucu olarak yorumlanmıştır [231]. Cinsiyet açısından ise çelişkili sonuçlar [227, 228, 232] olmasına rağmen, cinsiyetin risk faktörü olarak değerlendirildiği çalışmalarda erkeklerdeki periodontitis prevalansının daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür [228, 232]. Xie ve ark.'nın çalışmasında kadınlardan 07.00'de alınan tükürük örneklerindeki kortizol seviyeleri erkeklerden önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur [213]. Çalışmamızda cinsiyetin ve yaşın periodontal hastalık açısından risk

faktörü olabilmesi ve tükürük içeriğini değiştirebilmesi durumuna karşı gruplar dengeli olacak şekilde oluşturuldu.

Periodontal dokuların obezite, metabolik sendrom, solunum sistemi ile ilgili hastalıklar, romatoid artrit, kronik böbrek hastalığı ve kanser gibi çeşitli sistemik hastalık ve durumlardan etkilendiği bilinmektedir [51, 233-238]. Romatoid artritin patogenezi ile kronik periodontitis patogenezinin benzer rezonansda olduğu bildirilmiştir [239]. Romatoid artritli bireyler ile periodontal hastalıklı bireylerin tükürüğünde görülen enflamatuvar biyobelirteçlerin birbirini etkileyebileceği gösterilmiştir [51]. Çeşitli solunum yolu enfeksiyonlarının periodontal hastalıkla ilişkili olduğu ve pnömoniye neden olan potansiyel patojenlerin yoğun bakım ünitesindeki yüksek riskli hastaların oral mukozası ve mikrobiyal dental plağına kolonize olduğuna dair raporlar yayınlanmıştır [240-242]. Diyabet, sjögren sendromu, parkinson hastalığı, Bell's palsy, kistik fibrozis gibi hastalıklar, antihipertansif, antihistaminik, antiepileptik, sedatif, antidepresan gibi ilaçların kullanımı ve radyoterapi, kemoterapi ve immünosupresif tedaviler tükürük içerik ve akışını değiştirdiği bilinmektedir [32]. Ayrıca, konak yanıtı son 3 ayda antienflamatuvar bir ilaç kullanan, hamilelik ve emzirme döneminde bulunan, radyoterapi, kemoterapi ve immünosupresif tedavi görmüş olan bireylerde değişebileceği için çalışmamıza dahil edilmemiştir [243, 244]. Sistemik hastalıklar ve ilaç kullanımlarının tükürük üzerindeki etkisini araştırmamız dışında tutabilmek için, çalışma gruplarımız sistemik olarak sağlıklı bireylerden oluşturuldu.

Sigara periodontal hastalık prevalansını ve şiddetini etkileyen önemli bir risk faktörü kabul edilir [87]. Diğer yandan sigaranın tükürük akış hızını azalttığı bilinmektedir [245]. Bu sebeple sigara içen bireyler çalışmamıza dahil edilmedi. Sistemik ve lokal antibiyotik kullanımının, periodontal patojenlerin sayısını, konak yanıtını ve tükürük içeriğini etkileyebileceği için son 3 ay içinde antibiyotik kullananlar kişiler çalışmamıza dahil edilmedi [246, 247]. COVİD-19 hastalığı geçiren kişilerde koronavirüs tükürük içeriği ve akış hızında değişiklikler olabileceği için son 6 ay içerisinde COVİD-19 geçiren kişiler çalışmamıza dahil edilmedi [216, 248].

Park ve ark.'nın yaptıkları çalışmada vardiyalı çalışan ve uyku bozukluğu olan kişilerin sirkadiyen ritmin bozulduğu ve obezite, tip 2 diyabet, koroner kalp hastalığı, kanser ve periodontal hastalık riskinin arttığı bildirilmiştir [3]. Diğer yandan uzun bir hava yolculuğu sonrası kişinin biyolojik saatinde bir kaymanın meydana gelmesiyle oluşan jet lag

sendromunda da uyku bozuklukları, konsantrasyon güçlüğü, sinirlilik, depresyon gibi rahatsızlıklar meydana geldiği bilinmektedir [19]. Düzensiz uyku süresine sahip, gece vardiyasında çalışan, gece nöbeti tutan, yakın zamanda jet laga sebep olan bir yolculuk yapan bireylerin sirkadiyen ritmi değişebileceği için çalışmamıza dahil edilmemiştir. [3, 20].

Çalışmaya dahil edilen bireylerin periodontal durumlarının belirlenebilmesi amacıyla Pİ, Gİ, SD, SKİ ve KAS değerleri incelendi. Pİ diş yüzeyindeki mevcut plak miktarını tespit ederek oral hijyen seviyesini değerlendirmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır [49, 218, 249]. Gİ, dişetinin rengi, kıvamı ve kanamanın varlığı değerlendirmek inflamasyonun derecesi belirlemek için kullanılan bir indekstir [49, 219, 249]. SKİ ise yüzde cinsinden ifade edilir ve gingival dokulardaki aktif inflamasyonunun belirlenebilmesi için sıklıkla kullanılan pratik yöntemlerden biridir [250]. KAS ve CD, periodontal hastalığın teşhisinde ve değerlendirilmeside kullanılan en yaygın indekslerdendir [251]. Standartizasyonu sağlamak amacıyla çalışmamızda tüm ölçümler tek bir araştırmacı tarafından alındı.

Tükürük; majör ve minör tükürük bezlerinden salgılanan su, inorganik iyonlar, proteinler, enzimler ve immünglobulinlerden oluşan heterojen bir sıvıdır [34]. Tükürük kolay toplanabilen, invaziv olmayan, saklaması kolay, hızlı, hasta için güvenli ve düşük maliyetli bir bilgi kaynağı olduğundan değeri her geçen gün artmaktadır [42]. Periodontal hastalıklar ve tedavileri ile ilgili araştırmalarda bölgesel inflamasyonu yansıttığı için DOS'ta sıklıkla tercih edilirken [252, 253]; DOS, örneklemesi teknik hassasiyet ve özel ekipman gerektiren zaman alıcı bir tanı aracıdır [254]. Periodontitis ile ilişkili tükürükte birçok biyobelirteç tespit edilmiştir [43-45]. Bu biyobelirteçlerin periodontal hastalığın erken tespiti, patogenezini, aktivitesini ve tedaviye yanıtını izlemek için sıklıkla kullanıldığı görülmektedir [45-50]. Tükürük örnekleri uyarılmış ve uyarılmamış tükürük olarak toplanabilmektedir [142]. Stimülasyon ile tükürük akış hızı ve içeriğinin konsantrasyonu değişebileceği gösterilmiştir [42]. Uyarılmamış tükürük bileşimi, uyarılmış tükürüğe göre plazmaya daha fazla benzerlik göstermektedir [42]. Uyarılmamış tükürüğün en büyük avantajının, tükürük bezi fonksiyonlarından daha az etkilenmesi ve sistemik klinik durumu daha doğru yansıtması olduğu söylenebilir [255]. Literatürde enflamatuvar biyobelirteçler üzerine yapılan çalışmalarda da sıklıkla uyarılmamış tükürük örneklerinin tercih edildiği izlenmektedir [40, 41, 49-51, 58, 215]. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda uyarılmamış tükürük örnekleri kullanıldı.

Tükürük akışı, bireyin fizyolojik durumuna bağlı olarak farklılık gösterdiği gibi, gün içerisinde de pek çok faktörden etkilenir. Günlük akış değişkenliği sadece akış miktarını değil, aynı zamanda elektrolit ve protein dengesini de etkiler [34, 127]. Tükürük akış hızının gündüzleri artarken geceleri azaldığı bilinmektedir [37]. Tükürük akışı ve içeriğinin sirkadiyen ritimden etkilendiği ve gün içerisinde farklılıklar gösterebildiği ileri sürülmekle birlikte literatürde bu konu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmektedir [37-41, 213, 215]. Tükürük örnekleri ile yapılan çalışmalarda da örnekleme zamanları ile ilgili bir konsensus olmadığı izlenmektedir. Tükürük örnekleme zamanlarını bazı çalışmalar "sabah saatleri" olarak ifade ederken [45, 52-56] bazı çalışmaların ise "günün hep aynı zaman diliminde" örnek alındığını ifade ettikleri [43, 44] görülmüştür. Ancak bu standardizasyonlar, çalışma içerisinde örneklerin sirkadiyen ritimden etkilenmelerini eşitlemeye yönelik olup, net zaman dilimi çoğu zaman verilmediğinden [58-62] farklı çalışmaların sonuçları birbiriyle karşılaştırılırken sirkadiyen ritmin tükürük içeriği üzerindeki etkisini ekarte edememektedirler. Izawa ve ark.'nın [40] sistemik sağlıklı bireylerde IL-6 ve CRP'yi incelediği çalışmada 07.00, 07.30, 10.00, 13.00, 16.00, 19.00, 22.00 ve 01.00 zaman dilimlerinde günde toplam 8 kez uyarılmamış tükürük toplanmıştır. Kessler ve ark.'nın [39] sistemik sağlıklı bireylerde protein, pH, kortizol, melatonin, resistin, adiponektin, IL-6 ve MCP-1'i incelendiği çalışmada saat 04.00, 08.00, 12.00, 16.00, 20.00 ve 24.00 olmak üzere günde 6 kez uyarılmış tükürük toplanmıştır. Bel'skaya ve ark.'nın [38] sistemik sağlıklı bireylerde tükürük pH, Ca, K, Na ve inorganik fosfor iyonlarının konsantrasyonlarını inceledikleri çalışmalarında ise 03.00, 06.00, 09.00, 12.00, 15.00, 18.00, 21.00 ve 24.00'te tükürük örnekleri toplanmıştır. Çalışmamızda, tükürük örneklerinin klinik ortamda hekim kontrolünde toplanabilmesi için tükürük örnekleme zamanlarının çoğu mesai saatlerine denk getirildi. Mesai saati dışındaki örnekler gönüllüler tarafından alındı. Çalışmamızda biyobelirteçlerimizin tükürük içerinde gün içindeki değişimlerini görebilmek ve tükürük alım zamanını standartlaştırmak için gönüllülerden 10.00, 12.00, 14.00, 16.00, 18.00 ve 22.00 zaman dilimlerinde olmak üzere 6 defa tükürük örneği toplandı.

Literatürde farklı tükürük toplama yöntemleri bulunmaktadır; (1) tükürüğün gönüllülerin alt dudağından bir huniyle dereceli bir test tüpüne damlatılması ile yapılan pasif tükürük akıtma yöntemi, (2) ağız tabanında biriken tükürüğün 60 saniyede bir derecelendirilmiş bir test tüpüne tükürtülmesi ile yapılan tükürme yöntemi, (3) ağız tabanından test tüpüne tükürük emici veya aspiratörle tükürüğün vakumlanarak aktarılması ile yapılan vakum yöntemi ve (4) ağız içine yerleştirilmiş pamuk veya polietilen rulo tamponlara veya gazlı beze

tükürüğün emdirilmesi ile yapılan emici yöntem [142]. Tükürük örneklemesinde literatürde emici yöntemin yaygın olarak tercih edildiği görülürken [256-260] bunlardan bir kısmında standardize ticari pamuk tampon kitleriyle yapıldığı görülmüştür. Zhou ve ark. [215], Xie ve ark. [213] ve Kessler ve ark.'nın [39] tükürük örnekleriyle yaptıkları çalışmalarında tükürük örneklerini toplamak için standart pamuk ruloları içeren etiketli standart tüplerden Salivette® tüplerini kullanmışlardır. Çalışmamızda tükürük örnekleri toplamak için, hijyenik, hızlı, güvenli ve kullanımı kolay bir yöntem olan emici yöntem tercih edildi.

Standart Salivette® pamuk tamponlarıyla toplanan tükürük örneklerinin kortizol konsantrasyon düzeyleri, pasif tükürük akıtma yöntemiyle elde edilen konsantrasyon düzeyinden daha düşük tespit edilmiştir. Salivette® Cortisol'de standart pamuk rulo tampon yerine polietilen tamponlar bulunur ve bu tamponlarla elde edilen tükürük kortizol konsantrasyon düzeylerinin pasif tükürük akıtma yöntemiyle elde edilen düzeylere çok yakın olduğu bildirilmiştir [156, 261]. Çalışmamızda tükürük örnekleri toplamak için standart polietilen rulo tampon içeren Salivette® Cortisol tüpler kullanılmıştır. Tükürük örneği toplanmadan en az 1 saat önce tükürük içeriğinin etkilenmemesi için gönüllülerden bir şey yiyip içmemesi, diş fırçalamaması ve sakız çiğnememesi istenmiştir [32, 262].

Tükürükte bulunan belirteç seviyelerinin incelenmesi için; ELİSA [44, 50, 51, 58], polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) [59], zamana bağlı immünoflorometrik analiz (Time- Resolved Immuno Fluorometric Assay, TR-IFMA) [249], çoklu boncuklu immünotest (Multiplexed Bead Immunoassay, MPBI) [50], yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPCL) [263] ve akım sitometri (Flow Cytometry) [264] gibi yöntemler kullanılabilmektedir. ELİSA, antijen-antikor ilişkisini ve antikora bağlanabilen bir enzimin aktivitesini değerlendirmek için kullanılabilen kantitatif bir ölçüm yöntemdir [265]. ELİSA, tükürük gibi vücut sıvılarının analizinde sıklıkla kullanılan hızlı, yeterli ve güvenilir sonuçlar veren, yüksek verimliliğe ve tekrarlanabilirliğe sahip bir yöntemdir [48, 265]. Periodontoloji alanındaki çalışmalarda, tükürük içerisinde yer alan IL-1β, TNF-α ve MMP-8 gibi biyobelirteçlerin tespiti için sıklıkla tercih edilmesi [44, 49, 58, 59, 266], pratik ve maliyet açısından uygun olması sebebi ile çalışmamızda ELİSA yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmamıza katılan bireylerde periodontitisli grubun periodontal sağlıklı gruba kıyasla daha düşük diş fırçalama sıklığına sahip olduğu görülmüştür ($p<0,001$). Ababneh ve ark.'nın

2012 yılında yaptıkları çalışma [267] ile Bozyel'in 2022 yılında yaptığı çalışmada da [268] periodontitis gruplarında daha düşük fırçalama sıklığı olduğu görülmüştür

Mevcut çalışmamızda tüm ağız Pİ skorları açısından sağlıklı ve periodontitisli gruplar değerlendirildiğinde; periodontitisli grupta sağlıklı gruba oranla Pİ ölçümleri anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0,001$). Literatürde de periodontitis ve periodontal sağlıklı gruplar arasında genellikle Pİ skorları arasında farklar bulunduğu izlenmektedir [5, 49, 51]. Diğer yandan, Pİ sonucumuzun çalışmamızda yer alan 2 grup arasındaki oral hijyen alışkanlıklarındaki farklılıkla da uyumlu olduğu görülmüştür

Grupları arasındaki Gİ değerleri incelendiğinde, periodontitisli grupta sağlıklı gruba oranla Gİ ölçümleri anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0,001$). Gİ, dişetinin inflamasyonun derecesi belirlemek için kullanılan bir indeks olup, çalışmamızda periodontitisli grubun Gİ ortalamasının sağlıklı gruba göre yüksek olması, sonucumuzun literatürler ile uyumlu olduğunu da göstermektedir [49, 51, 219].

Gingival dokulardaki aktif inflamasyonun değerlendirilmesi için kullanılan [250] SKİ, periodontitisli grupta periodontal sağlıklı gruba oranla anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0,001$). Çalışmamızda görülen bu farklılıkların literatürler ile uyumlu olduğu görülmektedir [49, 50].

Miller ve ark. [44], Ebersole ve ark. [50] ve Nayak ve ark.'nın [269] çalışmalarında kronik periodontitiste doku yıkımlarına bağlı artmış CD ve/veya değişen KAS değerleri periodontal sağlıklı gruba oranla anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızın periodontitisli grubunda da birçok literatürde olduğu gibi [50, 51, 59, 270, 271] periodontal olarak sağlıklı gruba oranla, CD ve KAS değerleri anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0,001$).

Periodontal hastalığın patogenezinde önemli bir proenflamatuvar sitokin olan IL-1β periodontal hastalıkta tükürük biyobelirteçleri arasında klinik araştırmalarda en kapsamlı çalışılan sitokinlerindendir [44, 45, 48-51, 58-62, 249]. Literatürde yer alan birçok çalışmada [44, 49-51, 58, 59, 249] periodontitisli gruplarda tükürük IL-1β seviyesi sağlıklı gruplara oranla istatistiksel olarak daha yüksek bulunurken; bazı çalışmalarda [60-62] ise periodontitis grupları ile periodontal sağlıklı grupların tükürük IL-1β seviyeleri arasında

anlamlı bir sonuç çıkmadığı görülmüştür. Periodontitisli hastalara yapılan faz 1 tedaviler sonucu tükürük IL-1β seviyesinin düştüğünü bildiren çalışmalarda vardır [45, 49].

Kaushik ve ark.'nın (2011) uyarılmamış tükürükteki IL-1β seviyelerini incelediği çalışmalarında, kronik periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere göre daha yüksek IL-1β seviyeleri saptandığı bildirilmiştir. Periodontitisli bireylerde faz 1 tedaviden 1 ay sonra alınan uyarılmamış tükürükteki IL-1β seviyelerinin düştüğü, ama sağlıklı gruplara oranla hala yüksek olduğu bildirilmiştir. Literatürde tükürük örneklem zamanıyla ilgili bir veriye rastlanılmamıştır [49]. Rathnayake ve ark. [249] ve Gürsoy ve ark.'nın [59] yaptıkları çalışmalarda 5 mm veya daha fazla klinik ataşman kaybı olan ileri şiddette periodontitisli bireylerde uyarılmış tükürükte IL-1β seviyelerinin periodontal sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Miller ve ark.'nın [44] (2006) uyarılmamış tükürükte yaptıkları çalışmalarında da IL-1β seviyeleri 3 mm veya daha fazla klinik ataşman kaybı olan orta veya ileri şiddette periodontitis hastalarında periodontal sağlıklı gruba göre yüksek bulunmuştur. Ancak bu araştırmalarda da tükürük toplama zamanıyla ilgili bir bilgiye ulaşılamamıştır. Arroyave ve ark.'nın (2008) 30 kronik periodontitisli, 18 agresif periodontitisli ve 18 sağlıklı bireyde uyarılmamış tükürükteki IL-1β seviyelerini incelediği çalışmalarında, periodontitis grupları arasında tükürük IL-1β seviyeleri için anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen, agresif ve kronik periodontitisli gruplarda sağlıklı gruplara göre anlamlı derecede yüksek IL-1β seviyeleri rapor edilmiştir. Literatürde tükürük örneklem zamanı belirtilmediği dikkat çekmiştir [58]. Ebersole ve ark. [50] ve Mirrielees ve ark.[51] yaptıkları çalışmalarda uyarılmamış tükürük örneklerini sabah 9.00-11.00 arasında kronik periodontitisli ve periodontal sağlıklı bireylerden topladıklarını bildirmişlerdir. Kronik periodontitisli bireylerde tükürük IL-1β seviyelerini sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir [50, 51]. Sonuçlarımıza göre 9.00-11.00 arası zaman dilimine denk gelen saat 10.00 tükürük örneklememizde periodontitisli hastaların ve periodontal sağlıklı bireylerin tükürük IL-1β seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Çalışmamızda periodontitisli ve sağlıklı bireylerde tükürükteki IL-1β seviyeleri saat 14.00'te alınan tükürük örneklerinde sağlıklı gruba kıyasla, periodontitisli bireylerde daha yüksek IL-1β seviyeleri saptandı ($p<0,05$). Diğer yandan çalışmamızda da 10.00, 12.00, 16.00, 18.00 ve 22.00 zaman dilimlerinde alınan tükürük örneklerinde periodontitis ve periodontal sağlıklı gruplar arasında tükürük IL-1β seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Ramseier ve ark.[60], Teles ve ark.[61] ve Christodoulides ve ark.'nın [62] yaptıkları çalışmalarda kronik periodontitisli ve sağlıklı gruplar arasında uyarılmamış tükürükte IL-1β seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir. Ramseier ve ark.[60], Teles ve ark.[61] ve Christodoulides ve ark.'nın [62] literatürlerinde tükürük toplama saatiyle ilgili bir bilgiye yer verilmediği görülmüştür. Literatürdeki tükürük IL-1β ile ilgili çelişkili sonuçlarda farklı örnekleme zamanları ve dolayısıyla sirkadiyen ritimden etkilerinin olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Diğer yandan periodontal hastalıklı bireylerin tükürük içeriği ile ilgili yapılan çalışmalarda, biyobelirteç düzeyleri arasındaki farklılıkların, çalışma gruplarının belirlenmesinde kullanılan sınıflandırma sisteminin farklılığından kaynaklanabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışmamızda grupların oluşturulmasında 2017 periodontal hastalık sınıflandırması referans alındı [87] ve periodontitis grubumuza evre 3 veya 4 periodontitisli hastalar dahil edildi. Literatürdeki çoğu çalışmanın ise 1999 periodontal hastalık sınıflandırması referans alınarak yapıldığı görülmektedir [44, 49, 50, 269] . Evre 3 veya 4 periodontitis indertental klinik ataşman kaybının 5 mm veya daha fazla olması, kökün orta veya apikal üçlüsüne kadar radyografik kemik kaybı olması, periodontal kaynaklı diş kaybı olması ile karakterize edilmiştir [87]. Kronik periodontitiste şiddetine göre 1-2 mm'den fazla olmayan ataşman kaybı hafif, 3-4 mm ataşman kaybı orta ve 5 mm veya daha fazla ataşman kaybı şiddetli periodontitis olarak sınıflandırılabilmektedir [81]. Agresif periodontitis, birinci büyük azı dişi dahil olmak üzere en az 2 daimî dişte hızlı ataşman kaybı ve kemik yıkımı lokalize agresif periodontitis, birinci büyük azı dişi ve keser dişler harici en az 3 dişte hızlı ataşman kaybı ve kemik yıkımı ile karakterize ise generalize agresif periodontitis olarak sınıflandırılmaktadır [82]. 1999 ve 2017 sınıflamalarının tam olarak birbiri ile örtüşmediği görülmekte ve bu durumun farklı sınıflamaları kullanmış araştırma sonuçları birbiri ile karşılaştırılırken güçlük yaratabileceği unutulmamalıdır.

İncelenen altı farklı örneklem saatinden sadece 14.00'te alınan örneklerde gruplar arasında anlamlı fark bulunurken; diğer örneklem zamanlarında gruplar arasındaki farkların istatistiksel olarak anlam taşımadığı görüldü. Mevcut sonuçlarımız, kendi limitleri dahilinde, örnekleme zamanlarının tükürük IL-1β düzeyleri üzerinde etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Sarkar ve ark.'nın [41] (2021) yaptıkları çalışmalarda 12 sistemik sağlıklı bireyde uyarılmamış tükürükte IL-1β, IL-6 ve IL-8 seviyelerinin gün içerisindeki değişimleri incelenmiştir. Uyanma anında ve uyandıktan 30 dk. sonra alınan tükürük örneklerinde IL-1β seviyeleri günün diğer zaman dilimlerinde alınan tükürük örneklerinden istatistiksel olarak yüksek çıktığı bildirilmiştir. Uyandıktan 3, 6 ve 9 saat sonra ve uyumadan hemen önce alınan tükürük örneklerinde IL-1β seviyeleri arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Tükürük IL-6 ve IL-8 seviyelerinin tükürük örnekleme zamanları arasında istatistiksel bir fark bulunmadığı bildirilmiştir. Çalışmamızda, ilk tükürük örneklemesi sabah 10.00'da klinik gözetimimizde yapıldı (uyanma anında ve uyandıktan 30 dk. sonra değil). Çalışma gruplarımızın her ikisinde de grup içerisinde tükürük IL-1β seviyelerinde istatistiksel bir farkın olmaması, çalışmamızın Sarkar ve ark.'nın [41] yaptıkları çalışmayla kısmen uyumlu olduğunu göstermektedir.

TNF-α, önemli bir proenflamatuvar sitokin kabul edilir, kemik ve kıkırdak rezorbsiyonunu, fibroblastlardan kollajenaz salgılanmasını indükler ve periodontitiste periodontal dokuların yıkımında rol oynar [48, 182-184]. Literatürde yer alan birçok çalışmada [43, 266, 272] periodontitisli gruplarda tükürük TNF-α seviyesi sağlıklı gruplara oranla istatistiksel olarak daha yüksek bulunurken; bazı çalışmalarda [50, 59-62] ise periodontitis grupları ile periodontal sağlıklı grupların tükürük TNF-α seviyeleri arasında anlamlı bir sonuç çıkmadığı görülmüştür. Frodge ve ark.'nın (2008) 3 mm veya daha fazla klinik ataşman kaybı olan orta veya ileri şiddette periodontitisi olan 35 hastada ve periodontal sağlıklı 39 bireyde uyarılmamış tükürükteki TNF-α seviyelerini incelediği çalışmada, periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere göre daha yüksek TNF-α seviyeleri bildirilmiştir. Bu literatürde tükürük örnekleme zamanıyla ilgili bir bilgiye yer verilmediği görülmüştür [43]. Varghese ve ark.'nın [266] (2015) kronik periodontitis, agresif periodontitis ve periodontal sağlıklı bireylerde yaptıkları çalışmada tükürük TNF-α seviyeleri kronik periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek TNF-α seviyeleri bildirilmiştir. Agresif periodontitis hastalarında ise tükürük TNF-α düzeyleri, kronik periodontitisli hastalar veya periodontal sağlıklı bireylerin tükürük TNF-α düzeylerinden önemli ölçüde farklı olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada da tükürüğün toplanma zamanıyla ilgili bir bilgiye yer verilmediği görülmüştür. Rai ve ark.'nın [272] (2008) yaptıkları çalışmada da tükürük örnekleme zamanına yer verilmeksizin 3 mm veya daha fazla klinik ataşman kaybı olan periodontitis hastalarında uyarılmamış tükürükteki TNF-α değerinin periodontal sağlıklı bireylerden anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Sexton ve ark.'nın yaptıkları çalışmada 68

kronik periodontitisli hastanın uyarılmamış tükürüğündeki TNF-α seviyelerinde periodontal faz 1 tedavi sonucu azalma olduğu bildirilmiştir [45]. Benzer şekilde çalışmamızda da periodontitis grubunun TNF-α seviyeleri 12.00, 14.00 ve 18.00 zaman dilimlerinde alınan tükürük örneklerinde sağlıklı gruba kıyasla, istatiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$).

Diğer yandan Ramseier ve ark. [60], Teles ve ark. [61] ve Ebersole ve ark.'nın [50] yaptıkları çalışmalarda kronik periodontitisli hastalar ve periodontal sağlıklı bireyler arasında uyarılmamış tükürükte TNF-α seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir. Gürsoy ve ark. [59] uyarılmış tükürükte yaptıkları çalışmalarında da TNF-α seviyeleri 5 mm veya daha fazla klinik ataşman kaybı olan ileri şiddette periodontitis hastaları ile periodontal sağlıklı bireyler arasında istatistiksel bir fark olmadığı bildirilmiştir. Ramseier ve ark. [60], Teles ve ark. [61], Gürsoy ve ark. [59] literatürlerinde tükürük örnekleme zamanıyla ilgili bir bilgiye yer verilmezlerken, Ebersole ve ark.'nın [50] literatüründe tükürük örneklerinin sabah 9.00-11.00 arasında toplandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda da 10.00, 16.00 ve 22.00 zaman dilimlerinde alınan tükürük örneklerinde periodontitis ve sağlıklı gruplar arasında tükürük TNF-α seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

İncelenen altı farklı örneklem saatinden 12.00, 14.00 ve 18.00 zaman dilimlerinde alınan tükürük örneklerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunurken; diğer örneklem zamanlarında gruplar arasındaki farkların istatistiksel olarak anlam taşımadığı görülmüştür. Mevcut çalışmamızın sonuçları, önceki araştırmaların sonuçları ile değerlendirildiğinde, tükürük örnekleme zamanlarının tükürük TNF-α düzeyleri üzerinde etkili olabileceği düşünülebilir.

MMP-8 (kollajenaz 2), periodontitiste ekstraselüler matriksin ve alveolar kemiğin yıkımına neden olabilen enzimlerden biridir [9, 57, 102]. Ayrıca periodontitiste MMP-8'in, periodontal dokularda en sık bulunan kollajen olan tip 1 kolajeni parçalamada etkili olduğu da bilinmektedir [72]. Ramseier ve ark. [60], ve Ebersole ve ark.'nın [50] uyarılmamış tükürükte, Gürsoy ve ark.'nın [59] uyarılmış tükürükte yaptıkları çalışmalarda ileri veya kronik periodontitis hastalarında tükürük MMP-8 değerinin, periodontal sağlıklı bireylerden anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Ramseier ve ark. [60] ve Gürsoy ve ark.'ın [59] literatürlerinde tükürük örnekleme zamanıyla ilgili bir bilgiye yer verilmemiştir. Ebersole ve ark.'nın [50] literatürlerinde ise tükürük örneklerinin "sabah 9.00-11.00 arasında" toplandığı belirtilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda da periodontitisli ve sağlıklı

bireylerde tükürükteki MMP-8 seviyeleri saat 12.00'te alınan tükürük örneklerinde sağlıklı gruba kıyasla, periodontitisli bireylerde daha yüksek MMP-8 seviyeleri saptandı ($p<0,05$). İncelenen altı farklı örneklem saatinden sadece 12.00'de alınan tükürük örneklerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunurken; 10.00, 14.00, 16.00, 18.00 ve 22.00 örneklem zamanlarında gruplar arasındaki farkların istatistiksel olarak anlam taşımadığı görülmüştür. Kavrama tez çalışmasında kronik periodontitis grubun, periodontal sağlıklı gruba kıyasla tükürük MMP-8 değerine sahip olmakla birlikte, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı bildirmiştir. Bu tez çalışmasında tükürük örneklemesinin "sabah saatlerinde" yapıldığı bildirildiği ve net olarak saat verilmediği görülmüştür [273]. Çalışmamızın sonuçları, kendi limitleri dahilinde değerlendirildiğinde, örnekleme zamanlarının tükürük MMP-8 düzeyleri üzerinde de etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Sirkadiyen ritmin en önemli göstergelerinden biri kortizol hormonu döngüsü kabul edilir [25, 26]. Stres ve depresyon periodontal hastalıkların başlamasını ve ilerlemesini etkileyebilir [210]. Strese verilen fizyolojik tepkide kortizol konsantrasyonunda etkili olduğu bilinmektedir [274]. Yapılan bazı çalışmalar, kortizolün periodontal durum ile ilişkili olduğunu öne sürerken [209, 269] bazıları da aksini bildirmişlerdir [212, 275]. Periodontitis ve periodontal sağlıkta tükürük kortizol seviyelerini değerlendiren çalışmalarda ortak bir konsensus olmadığı görülmüştür. Botelho ve ark.'nın [209] yaptıkları çalışmada agresif periodontitisli hastaların, periodontal sağlıklı bireylerden daha yüksek tükürük kortizol seviyelerine sahip olduğu, ancak kronik periodontitisli hastalar ve periodontal sağlıklı bireylerin tükürük kortizol seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir. Genco ve ark. yaptıkları çalışmada yüksek düzeyde mali strese sahip kişilerde daha fazla klinik ataşman kaybının görüldüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada şiddetli periodontitis ve yüksek düzeyde mali strese sahip kişilerin tükürük kortizol düzeyleri periodontal sağlıklı ve düşük düzeyde mali strese sahip kişilerden daha yüksek tespit edilmiştir [274]. Nayak ve ark.'nın [269] yaptıkları çalışmada kronik periodontitis grubunda DOS ve tükürük kortizol değerleri periodontal sağlıklı gruba göre daha yüksek gösterilmiş ama anlamlı bulunmamıştır. Anksiyeteli ve periodontitisli bireylerin DOS ve tükürük kortizol değerleri anksiyetesiz periodontal sağlıklı veya periodontitis gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bahsedilen 3 araştırmada [209, 269, 274] tükürük örnekleme zamanıyla ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır. Çalışmamızda tüm zaman dilimlerinde alınan tükürük örneklerinde periodontitis ve periodontal sağlıklı gruplar arasında tükürük kortizol seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Ayrıca tükürük

kortizol seviyelerinin stres, anksiyete, travma, ağrı, obezite, gebelik, aşırı soğuk veya sıcak ortam, akut doku hasarı, cerrahi işlemler, hareketsiz bırakılma ve heyecan gibi durumlara bağlı olarak değişiklik gösterebileceği bildirilmiştir [207, 208, 276-280].

Kessler ve ark.'nın [39] (2020) yaptıkları çalışmada sistemik sağlıklı 29 erkek katılımcıda 04.00, 08.00, 12.00, 16.00, 20.00 ve 24.00 zaman dilimlerinde toplanan uyarılmış tükürükte kortizol seviyeleri sabah 08.00 civarında tavan yaptığı görülmüştür. Ayrıca tükürükteki enflamatuvar ve metabolik belirteçlerin salgılanma modellerinin beslenme sırasındaki karbonhidrat ve yağ alım zamanlamasına bağlı olmadığı bildirilmiştir. Çalışmamız uyarılmamış tükürüğün örneklemesi hem kadınlardan hem de erkeklerden numune toplanması ile bu çalışmadan ayrılmaktadır. Diğer yandan uyarılmış tükürük içeriğinin, uyarılmamış tükürük içeriğinden farklı olduğu bilinmektedir. Uyarılmış tükürükte sodyum, klor ve bikarbonat konsantrasyonları artarken, potasyum ve fosfat konsantrasyonları azalmaktadır [32]. Ayrıca uyarılmamış tükürük bileşimi, uyarılmış tükürüğe göre plazmaya daha fazla benzerlik göstermektedir [42]. Xie ve ark.'nın çalışmasında kadınlardan 07.00'de alınan tükürük örneklerindeki kortizol seviyeleri, erkeklerden önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur [213]. Kortizol ve enflamatuvar belirteçlerin tavan yaptığı tükürük örnekleme zamanlarında çalışmamızda tükürük örneklerinin toplanmamış olmasının da sonuçlarımızda tavan değerlerinin görülememesinde etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Genellikle tükürük akış hızı ve pH seviyelerinin tükürük protein seviyeleriyle negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Tükürük akış hızı ve pH seviyelerinin geceleri düştüğünü ve protein seviyelerininse arttığı bildirilmiştir [38, 39, 281]. Çalışmamızda tükürük örneklemesinin Salivette® Cortisol polietilen tamponlarla yapılması ve bu sebeple tükürük akış hızının değerlendirilememesi bu çalışmanın bir limitasyonu olarak değerlendirilebilir. Diğer yandan, örnekleme zamanının hasta uyumu göz önüne alınarak 24 saate homojen olarak dağıtılmaması da çalışmamızın diğer bir limitasyonu kabul edilir. Gece yapılamayan örneklemelerde, düşük molekül ağırlıklı protein olan sitokinlerin tükürükte tavan seviyelere ulaştığı saatlerin yakalanamadığı da düşünülebilir.

Xie ve ark.'nın [213] (2022) yaptıkları çalışmada 30 sistemik sağlıklı gönüllüde 07.00, 10.00, 16.00 ve 20.00 saatlerinde tükürük kortizol seviyeleri karşılaştırılmıştır. Saat 07.00'de alınan tükürük örneklerindeki kortizol seviyeleri, diğer zaman dilimlerinde alınan örneklerden istatistiksel olarak daha yüksek çıkmıştır. Saat 20.00 de alınan tükürük

örneklerinde saptanan kortizol seviyelerinin ise diğer zaman dilimlerinden saptanan seviyelerden anlamlı derecede düşük olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda ilk tükürük örneklemesi sabah saat 10.00'da yapılmış ve bu tükürük örneklemesindeki kortizol düzeyleri ile diğer zaman dilimlerindeki tükürük kortizol düzeyleri arasında istatistiksel bir farklılık saptanmadı. Diğer yandan katılımcıların stres seviyelerine göre tükürük kortizol seviyelerinde gün içinde belirgin değişiklikler olabileceği bildirilmiştir [207, 208, 274, 276-280, 282, 283].

Izawa ve ark. [40] (2013) tükürükteki IL-6 ve CRP gibi enflamatuvar belirteçlerinin günlük değişimlerini incelemek için yaptıkları çalışmaya sistemik sağlıklı 27 gönüllü dahil etmişlerdir. Gönüllülerden 07.00, 07.30, 10.00, 13.00, 16.00, 19.00, 22.00 ve 01.00 zaman dilimlerinde günde 8 kez olmak üzere 2 gün art arda tükürük toplanmıştır. Bireylerden çalışma süresince saat 07.00'de uyanmaları ve saat 01.00'den sonra yatmaları istenmiştir. Tükürük IL-6 ve CRP seviyelerinin uyanma anında tavan değere ulaştığı görülmüştür. Tükürük IL-6 seviyesinin gün içinde düştüğü ve uyuma anında tekrar arttığı görülmüştür. Bu veriler tükürükteki enflamatuvar biyobelirteçlerin geceleri maksimum değere ulaşabileceğini düşündürtmektedir. Çalışmamızda grup içerisindeki farklı zaman dilimlerinde incelenen tüm biyobelirteçlerin istatistiksel değerlendirmesinde anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Wu ve ark.'nın [284] (2018) yaptıkları çalışmada, kronik periodontitis ve sağlıklı bireylerde IL-1β, TNF-α ve MMP-8'in analiz edildiği çalışmada tükürük örnekleme zamanı belirtilmemiştir. Bu çalışmaya katılan bireylerin tükürük IL-1β ile TNF-α ve MMP-8 değerleri arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı ilişki görüldüğü bildirilmiştir. Ebersole ve ark.'nın [50] yaptıkları çalışmada tükürük IL-1β ve MMP-8 arasında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür. Kavrama'nın [273] tez çalışmasında tükürük TNF-α ve MMP-8 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler tespit edilmiştir. Çalışmamızda tüm örneklemde tükürük IL-1β ile TNF-α ve MMP-8 değerleri arasında pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu ($p<0,05$). Aynı zamanda TNF-α ile MMP-8 arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$). Çalışmamızda enflamatuvar sitokinler arasında saptanan korelasyon değerlerinin literatür [50, 273, 284] ile uyumlu olduğu izlendi.

Tükürükte yapılan çalışmaların sonuçlarının incelendiği ve bu sonuçların farklı çalışmalarla karşılaştırıldığı literatürlerde, sirkadiyen ritmin tükürük içeriğine olası etkisinin göz ardı

edildiği görülmektedir. Mevcut araştırma, periodontitisli ve periodontal sağlıklı bireylerin tükürük IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve kortizol düzeylerini değerlendirerek, 6 farklı örnekleme zamanı ile sirkadiyen ritmin olası etkisini inceleyen literatür bilgilerimiz dahilindeki ilk çalışmadır. Çalışmamızda, tükürük IL-1β, TNF-α ve MMP-8 seviyelerinde, periodontitis ve periodontal sağlıklı gruplar arasında, bazı örneklem zamanlarında istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmesi, bazı örneklem zamanlarında ise anlamlı farklar görülmemesi, bize tükürük örneklem zamanının önemli olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde de tükürük biyobelirteçlerinin incelendiği çalışmalarda net konsensuslar oluşmamasında, örnekleme zamanları konusunda bir fikir birliği olmamasının da katkısı olabileceği düşünülebilir.

Tükürük içeriğinin sadece sirkadiyen ritime bağlı olarak değişmediği de unutulmamalıdır. Stimülasyon süresi ve çeşidi, gebelik, diyet, egzersiz yapmak, alkol kullanmak, genetik polimorfizmler, hormonlar, çeşitli hastalıklar ve ilaçlar tükürük içeriğini etkileyebilmektedir [32, 34, 285-288]. Gebe kadınlar ile gebe olmayan kadınların tükürük protein, α-amilaz, sialik asit, kalsiyum ve fosfor düzeylerinde farklılıklar görülmüştür [288]. Yoğun bir egzersiz sonucu eforun Ig, hormonlar, laktat, proteinler ve elektrolitler gibi çeşitli tükürük bileşenlerinde değişikliklere neden olabileceği bildirilmiştir [286]. Yapılan başka bir çalışmada ise akut alkol tüketiminin tükürük akış hızı, protein, α-amilaz ve elektrolit düzeyini değiştirdiği görülmüştür [287]. Tükürük içerisindeki enflamatuvar biyobelirteçleri etkileyen faktörler ile ilgili detaylı bilgiye literatür bilgilerimiz dahilinde rastlanamamıştır.

Konu ile yapılacak gelecek çalışmalarda, çalışma içi örnekleme zamanlarının standardize edilmesi ve çalışmalarda mutlaka örnekleme zaman aralığının net olarak belirtilmesine ihtiyaç olduğu görülmüştür. Böylelikle, farklı araştırma sonuçları birbiri ile karşılaştırılırken olası sirkadiyen ritim etkilerini gözeterek, daha sağlıklı değerlendirme imkânı doğacaktır. Örnekleme zamanının seçimi ile ilgili bir ortak kanı oluşmasına katkıda bulunmak ve farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmaların sonuçlarının daha doğru karşılaştırılabilmesine olanak tanımak ve her biyobelirteç için en ideal örnekleme zamanının belirlenebilmesi için daha fazla geniş kapsamlı çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, periodontitisli ve sağlıklı bireylerden 10.00, 12.00, 14.00, 16.00, 18.00 ve 22.00 olmak üzere 6 farklı zamanda elde edilen uyarılmamış tükürük örneklerinde IL-1β, TNF-α, MMP-8 ve kortizol biyobelirteç düzeylerinin değerlendirilmesi, sirkadiyen ritimin biyobelirteçler üzerinde olası etkilerinin incelenmesi, klinik periodontal indeksler ile laboratuvar sonuçları arasındaki korelasyonların değerlendirilebilmesi amaçlandı. Çalışmamız, bilgimiz dahilinde periodontitisli ve periodontal sağlıklı bireylerin tükürüklerinde sirkadiyen ritmin etkilerini inceleyen ve karşılaştıran ilk çalışma olarak göze çarpmaktadır.

Çalışmamızda sonuç olarak;

1. Pİ, Gİ, SKİ, CD VE KAS periodontal klinik indekslerin değerlendirmesinde, periodontitis gruplarının skorları periodontal sağlıklı grubun skorlarına göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$).
2. IL-1β seviyeleri saat 14.00'te alınan tükürük örneklerinde, sağlıklı gruba kıyasla, periodontitisli grupta daha yüksek saptandı ($p<0,05$).
3. TNF-α seviyeleri 12.00, 14.00 ve 18.00 zaman dilimlerinde alınan tükürük örneklerinde sağlıklı gruba kıyasla, periodontitisli grupta istatiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$).
4. MMP-8 seviyeleri saat 12.00'te alınan tükürük örneklerinde sağlıklı gruba kıyasla, periodontitisli bireylerde daha yüksek MMP-8 seviyeleri saptandı ($p<0,05$).
5. Tükürük örneklerindeki kortizol düzeylerinin gün içinde gruplar arasında ve grup içlerinde istatistiksel anlamlı değişiklikler sergilemediği görüldü.
6. Periodontitisli ve periodontal sağlıklı bireylerden toplanan uyarılmamış tükürük örneklerinde IL-1β ile TNF-α ve MMP-8 değerleri arasında pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu ($p<0,05$). Aynı zamanda TNF-α ile MMP-8 arasında pozitif yönlü anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$).
7. Tükürük örneklerindeki IL-1β, TNF-α ve MMP-8 düzeylerinin gün içinde grup içlerinde istatistiksel anlamlı değişiklikler sergilemediği görüldü.

Gün içinde tükürük IL-1β, TNF-α ve MMP-8 düzeylerinin gruplar arasında bazı zaman dilimlerinde anlamlı farklılıklar gösterip, gösterip bazı zaman dilimlerinde ise anlamlı

farklılıklar göstermemesi bize tükürük toplama zamanı seçiminin önemli olabileceğini düşündürmüştür.

Tükürük ile ilgili yapılacak çalışmalarda örnekleme zamanlarının net olarak belirtilmesi, farklı araştırmaların sonuçlarının birbiriyle daha sağlıklı karşılaştırılabilmelerine olanak tanıyacaktır.

Diğer yandan, 24 saate yayılan ve mümkünse her bireyde tekrarlayan tükürük örneklemeleriyle yürütülecek, konu ile ilgili daha kapsamlı çalışmalar sirkadiyen ritimin tükürük üzerine etkilerine ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. Tonetti, M. S., Van Dyke, T. E., & workshop*, w. g. o. t. j. E. A. (2013). Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAPWorkshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of periodontology, 84*, S24-S29.

2. Genco, R. J., & Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000, 62*(1), 59-94.

3. Park, J. S., Jeong, Y., Jung, J., Ryu, J. J., Lim, H. K., Jung, S. K., & Song, I. S. (2021). Shift work sleep disorder is closely associated with an increased risk for periodontal disease. *Journal of clinical periodontology, 48*(8), 1066-1075.

4. Listgarten, M. A. (1986). Pathogenesis of periodontitis. *Journal of clinical periodontology, 13*(5), 418-425.

5. Kinane, D., & Bartold, P. (2007). Clinical relevance of the host responses of periodontitis.

6. Garlet, G. P. (2010). Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *Journal of dental research, 89*(12), 1349-1363.

7. Pan, W., Wang, Q., & Chen, Q. (2019). The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *International journal of oral science, 11*(3), 30.

8. Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., & Van Dyke, T. E. (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000, 64*(1), 57-80.

9. Graves, D. T., & Cochran, D. (2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology, 74*(3), 391-401.

10. Reinberg, A., & Ashkenazi, I. (2022). Concepts in human biological rhythms. *Dialogues in clinical neuroscience*.

11. Sukumaran, S., Almon, R. R., DuBois, D. C., & Jusko, W. J. (2010). Circadian rhythms in gene expression: Relationship to physiology, disease, drug disposition and drug action. *Advanced drug delivery reviews, 62*(9-10), 904-917.

12. Bollinger, T., & Schibler, U. (2014). Circadian rhythms–from genes to physiology and disease. *Swiss medical weekly, 144*(2930), w13984-w13984.

13. Skene, D. J., & Arendt, J. (2007). Circadian rhythm sleep disorders in the blind and their treatment with melatonin. *Sleep Medicine, 8*(6), 651-655.

14. Özçelik, F., Erdem, M., Bolu, A., & Gülsün, M. (2013). Melatonin: Genel özellikleri ve psikiyatrik bozukluklardaki rolü. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar, 5*(2), 179-203.

15. Claustrat, B., Brun, J., & Chazot, G. (2005). The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev, 9*(1), 11-24.

16. Refinetti, R. (2010). Entrainment of circadian rhythm by ambient temperature cycles in mice. *Journal of Biological Rhythms, 25*(4), 247-256.

17. Abraham, U., Granada, A. E., Westermark, P. O., Heine, M., Kramer, A., & Herzel, H. (2010). Coupling governs entrainment range of circadian clocks. *Molecular systems biology, 6*(1), 438.

18. Brown, S. A., Zumbrunn, G., Fleury-Olela, F., Preitner, N., & Schibler, U. (2002). Rhythms of mammalian body temperature can sustain peripheral circadian clocks. *Current biology, 12*(18), 1574-1583.

19. Manfredini, R., Manfredini, F., Fersini, C., & Conconi, F. (1998). Circadian rhythms, athletic performance, and jet lag. *British journal of sports medicine, 32*(2), 101-106.

20. Redfern, P., Minors, D., & Waterhouse, J. (1994). Circadian rhythms, jet lag, and chronobiotics: an overview. *Chronobiology international, 11*(4), 253-265.

21. Wright Jr, K. P., Bogan, R. K., & Wyatt, J. K. (2013). Shift work and the assessment and management of shift work disorder (SWD). *Sleep medicine reviews, 17*(1), 41-54.

22. Oike, H., Oishi, K., & Kobori, M. (2014). Nutrients, clock genes, and chrononutrition. *Current nutrition reports, 3*, 204-212.

23. Wittmann, M., Dinich, J., Merrow, M., & Roenneberg, T. (2006). Social jetlag: misalignment of biological and social time. *Chronobiology international, 23*(1-2), 497-509.

24. Feng, D., & Lazar, M. A. (2012). Clocks, metabolism, and the epigenome. *Molecular cell, 47*(2), 158-167.

25. Poggiogalle, E., Jamshed, H., & Peterson, C. M. (2018). Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. *Metabolism, 84*, 11-27.

26. Hofstra, W. A., & De Weerd, A. W. (2008). How to assess circadian rhythm in humans: a review of literature. *Epilepsy & behavior, 13*(3), 438-444.

27. Benloucif, S., Burgess, H. J., Klerman, E. B., Lewy, A. J., Middleton, B., Murphy, P. J., and Revell, V. L. (2008). Measuring melatonin in humans. *Journal of Clinical Sleep Medicine, 4*(1), 66-69.

28. Garrıck, N. A., Hill, J. L., Szele, F. G., Tomai, T. P., Gold, P. W., & Murphy, D. L. (1987). Corticotropin-releasing factor: a marked circadian rhythm in primate cerebrospinal fluid peaks in the evening and is inversely related to the cortisol circadian rhythm. *Endocrinology, 121*(4), 1329-1334

29. Markowitz, M., Rotkin, L., & Rosen, J. F. (1981). Circadian rhythms of blood minerals in humans. *Science, 213*(4508), 672-674.

30. Scales, W. E., Vander, A. J., Brown, M. B., & Kluger, M. J. (1988). Human circadian rhythms in temperature, trace metals, and blood variables. *Journal of Applied Physiology, 65*(4), 1840-1846.

31. Edgar, W. M. (1992). Saliva: its secretion, composition and functions. *British Dental Journal, 172*(8), 305-312.

32. Edgar, W. M., O'Mullane, D., & Dawes, C. (2004). *Saliva and oral health* (Vol. 146): British Dental Association London.

33. Hay, D., Moreno, E., & Tenovuo, J. (1989). Human saliva: clinical chemistry and microbiology. In: Boca Raton, FL: CRC Press.

34. Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry, 85*(2), 162-169.

35. Dawes, C., Pedersen, A. L., Villa, A., Ekström, J., Proctor, G. B., Vissink, A., and Narayana, N. (2015). The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Archives of oral biology, 60*(6), 863-874.

36. Edgar, W. M. (1990). Saliva and dental health. Clinical implications of saliva: report of a consensus meeting. *British Dental Journal, 169*(4), 96-98.

37. Dawes, C. (1972). Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition. *The Journal of physiology, 220*(3), 529-545.

38. Bel'skaya, L. V., Kosenok, V. K., & Sarf, E. A. (2017). Chronophysiological features of the normal mineral composition of human saliva. *Archives of oral biology, 82*, 286-292.

39. Kessler, K., Hornemann, S., Rudovich, N., Weber, D., Grune, T., Kramer, A., and Pivovarova-Ramich, O. (2020). Saliva samples as a tool to study the effect of meal timing on metabolic and inflammatory biomarkers. *Nutrients, 12*(2), 340.

40. Izawa, S., Miki, K., Liu, X., & Ogawa, N. (2013). The diurnal patterns of salivary interleukin-6 and C-reactive protein in healthy young adults. *Brain, behavior, and immunity, 27*, 38-41.

41. Sarkar, A., Kuehl, M. N., Alman, A. C., & Burkhardt, B. R. (2021). Linking the oral microbiome and salivary cytokine abundance to circadian oscillations. *Scientific reports, 11*(1), 1-13.

42. Chiappin, S., Antonelli, G., Gatti, R., & Elio, F. (2007). Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica chimica acta, 383*(1-2), 30-40.

43. Frodge, B. D., Ebersole, J. L., Kryscio, R. J., Thomas, M. V., & Miller, C. S. (2008). Bone remodeling biomarkers of periodontal disease in saliva. *Journal of periodontology, 79*(10), 1913-1919.

44. Miller, C. S., King Jr, C. P., Langub, M. C., Kryscio, R. J., & Thomas, M. V. (2006). Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *The Journal of the American Dental Association, 137*(3), 322-329.

45. Sexton, W. M., Lin, Y., Kryscio, R. J., Dawson III, D. R., Ebersole, J. L., & Miller, C. S. (2011). Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. *Journal of clinical periodontology, 38*(5), 434-441.

46. Ozmeric, N. (2004). Advances in periodontal disease markers. *Clinica chimica acta, 343*(1-2), 1-16.

47. Miller, C. S., Foley, J. D., Bailey, A. L., Campell, C. L., Humphries, R. L., Christodoulides, N., and Jacobson, J. W. (2010). Current developments in salivary diagnostics. *Biomarkers in medicine, 4*(1), 171-189.

48. Jaedicke, K. M., Preshaw, P. M., & Taylor, J. J. (2016). Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontology 2000, 70*(1), 164-183.

49. Kaushik, R., Yeltiwar, R. K., & Pushpanshu, K. (2011). Salivary interleukin-1β levels in patients with chronic periodontitis before and after periodontal phase I therapy and healthy controls: A case-control study. *Journal of Periodontology, 82*(9), 1353-1359.

50. Ebersole, J. L., Schuster, J. L., Stevens, J., Dawson, D., Kryscio, R. J., Lin, Y., and Miller, C. S. (2013). Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. *Journal of clinical immunology, 33*, 271-279.

51. Mirrielees, J., Crofford, L. J., Lin, Y., Kryscio, R. J., Dawson III, D. R., Ebersole, J. L., & Miller, C. S. (2010). Rheumatoid arthritis and salivary biomarkers of periodontal disease. *Journal of clinical periodontology, 37*(12), 1068-1074.

52. Rhodus, N. L., Cheng, B., Myers, S., Miller, L., Ho, V., & Ondrey, F. (2005). The feasibility of monitoring NF-κB associated cytokines: TNF-α, IL-1α, IL-6, and IL-8 in whole saliva for the malignant transformation of oral lichen planus. *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center, 44*(2), 77-82.

53. Kamatani, T., Shiogama, S., Yoshihama, Y., Kondo, S., Shirota, T., & Shintani, S. (2013). Interleukin-1 beta in unstimulated whole saliva is a potential biomarker for oral squamous cell carcinoma. *Cytokine, 64*(2), 497-502.

54. Abduljabbar, T., Al-Sahaly, F., Kellesarian, S. V., Kellesarian, T. V., Al-Anazi, M., Al-Khathami, M., Vohra, F. (2016). Comparison of peri-implant clinical and radiographic inflammatory parameters and whole salivary destructive inflammatory cytokine profile among obese and non-obese men. *Cytokine, 88*, 51-56.

55. Robati, M., Yousefimanesh, H., Maleki, R., & GhafourianBrujerdnia, M. (2016). Salivary tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 levels in oral lichen planus patients. *Indian J Oral Sci, 7*, 79-82.

56. Sánchez, G. A., Miozza, V. A., Delgado, A., & Busch, L. (2013). Salivary IL-1β and PGE 2 as biomarkers of periodontal status, before and after periodontal treatment. *Journal of Clinical Periodontology, 40*(12), 1112-1117.

57. Ingman, T., Tervahartiala, T., Ding, Y., Tschesche, H., Haerian, A., Kinane, D. F., and Sorsa, T. (1996). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *Journal of clinical periodontology, 23*(12), 1127-1132.

58. Tobón-Arroyave, S., Jaramillo-González, P., & Isaza-Guzman, D. (2008). Correlation between salivary IL-1β levels and periodontal clinical status. *Archives of oral biology, 53*(4), 346-352.

59. Gursoy, U. K., Könönen, E., Uitto, V. J., Pussinen, P. J., Hyvärinen, K., Suominen-Taipale, L., & Knuuttila, M. (2009). Salivary interleukin-1β concentration and the presence of multiple pathogens in periodontitis. *Journal of clinical periodontology, 36*(11), 922-927.

60. Ramseier, C. A., Kinney, J. S., Herr, A. E., Braun, T., Sugai, J. V., Shelburne, C. A., and Giannobile, W. V. (2009). Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *Journal of periodontology, 80*(3), 436-446.

61. Teles, R. P., Likhari, V., Socransky, S., & Haffajee, A. (2009). Salivary cytokine levels in subjects with chronic periodontitis and in periodontally healthy individuals: a cross-sectional study. *Journal of periodontal research, 44*(3), 411-417.

62. Christodoulides, N., Floriano, P. N., Miller, C. S., Ebersole, J. L., Mohanty, S., Dharshan, P., and King Jr, C. P. (2007). Lab-on-a-chip methods for point-of-care measurements of salivary biomarkers of periodontitis. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1098*(1), 411-428.

63. Giannobile, W. V., Beikler, T., Kinney, J. S., Ramseier, C. A., Morelli, T., & Wong, D. T. (2009). Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontology 2000, 50*, 52.

64. Hall, J. E., & Hall, M. E. (2020). *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*: Elsevier Health Sciences.

65. Nanci, A., & Bosshardt, D. D. (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease. *PERIODONTOLOGY 2000, 40*(1), 11.

66. Sun, Y., Shu, R., Zhang, M.-Z., & Wu, A.-P. (2008). Toll-like receptor 4 signaling plays a role in triggering periodontal infection. *FEMS Immunology & Medical Microbiology, 52*(3), 362-369.

67. Pihlstrom, B. L. (2001). Periodontal risk assessment, diagnosis and treatment planning. *Periodontology 2000, 25*, 37-58.

68. Hancock, E., Mayo, C., Schwab, R., & Wirthlin, M. (1980). Influence of interdental contacts on periodontal status. *Journal of Periodontology, 51*(8), 445-449.

69. Mariotti, A., & Hefti, A. F. (2015). Defining periodontal health. *BMC oral health, 15*(1), 1-18.

70. Kinane, D. F. (1999). Periodontitis modified by systemic factors. *Annals of periodontology, 4*(1), 54-63.

71. Pihlstrom, B. L., Michalowicz, B. S., & Johnson, N. W. (2005). Periodontal diseases. *The lancet, 366*(9499), 1809-1820.

72. Marıottı, A. (1993). The extracellular matrix of the periodontium: dynamic and interactive tissues. *Periodontology 2000, 3*(1), 39-63.

73. Petersen, P. E., & Ogawa, H. (2005). Strengthening the prevention of periodontal disease: the WHO approach. *Journal of periodontology, 76*(12), 2187-2193.

74. Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature reviews Disease primers, 3*(1), 1-14.

75. Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology, 4*(1), 1-6.

76. Mariotti, A. (1999). Dental plaque-induced gingival diseases. *Annals of periodontology, 4*(1), 7-17.

77. Trombelli, L., Farina, R., Silva, C. O., & Tatakis, D. N. (2018). Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of clinical periodontology, 45*, S44-S67.

78. Hinrichs, J. E., & Novak, M. J. (2012). Classification of diseases and conditions affecting the periodontium. *Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranzas Clinical Periodontology. 11th ed. Louis Missouri: Elsevier Saunders*, 34-54.

79. Page, R. C., Offenbacher, S., Schroeder, H. E., Seymour, G. J., & Kornman, K. S. (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000, 14*(1), 216-248.

80. Fiorellini, J., Kim, D., & Ishikawa, S. (2006). Clinical features of gingivitis. *Carranza's Clinical Periodontology 10th Ed. Saunders*.

81. Flemmig, T. F. (1999). Periodontitis. *Ann Periodontol, 4*(1), 32-38.

82. Armitage, G. C. (2004). Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology 2000, 34*(1), 9-21.

83. Lang, N. (1999). International classification workshop. Consensus report: Aggressive periodontitis. *Ann Periodontol, 4*, 53.

84. Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L., Jepsen, S., Kornman, K. S., and Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions–Introduction and key changes from the 1999 classification. In (Vol. 89, pp. S1-S8): Wiley Online Library.

85. Lang, N. P., & Bartold, P. M. (2018). Periodontal health. *J Periodontol, 89 Suppl 1*, S9-s16.

86. Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., and Graziani, F. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology, 89*, S173-S182.

87. Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of periodontology, 89*, S159-S172.

88. Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000, 14*(1), 9-11.

89. Page, R. C., & Schroeder, H. E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology, 34*(3), 235-249.

90. Page, R. C. (1986). Gingivitis. *J Clin Periodontol, 13*(5), 345-359.

91. Kinane, D. F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000, 25*(1), 8-20.

92. Zhang, J.-M., & An, J. (2007). Cytokines, inflammation and pain. *International anesthesiology clinics, 45*(2), 27.

93. Ara, T., Kurata, K., Hirai, K., Uchihashi, T., Uematsu, T., Imamura, Y., and Wang, P. L. (2009). Human gingival fibroblasts are critical in sustaining inflammation in periodontal disease. *Journal of periodontal research, 44*(1), 21-27.

94. Dinarello, C. A. (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest, 118*(2), 503-508.

95. Kornman, K. S., Page, R. C., & Tonetti, M. S. (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology 2000, 14*(1), 33-53.

96. Miyasaki, K. T. (1991). The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *Journal of periodontology, 62*(12), 761-774.

97. Fonseca, J., Santos, M., Canhao, H., & Choy, E. (2009). Interleukin-6 as a key player in systemic inflammation and joint destruction. *Autoimmunity reviews, 8*(7), 538-542.

98. Novick, D., Engelmann, H., Wallach, D., & Rubinstein, M. (1989). Soluble cytokine receptors are present in normal human urine. *The Journal of experimental medicine, 170*(4), 1409-1414.

99. Brosseron, F., Krauthausen, M., Kummer, M., & Heneka, M. T. (2014). Body fluid cytokine levels in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a comparative overview. *Molecular neurobiology, 50*, 534-544.

100. Afacan, B., Öztürk, V. Ö., Paşalı, Ç., Bozkurt, E., Köse, T., & Emingil, G. (2019). Gingival crevicular fluid and salivary HIF-1α, VEGF, and TNF-α levels in periodontal health and disease. *Journal of periodontology, 90*(7), 788-797.

101. Punzi, L., Calò, L., & Plebani, M. (2002). Clinical significance of cytokine determination in synovial fluid. *Critical reviews in clinical laboratory sciences, 39*(1), 63-88.

102. Taba, M., Kinney, J., Kim, A. S., & Giannobile, W. V. (2005). Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dental Clinics, 49*(3), 551-571.

103. Buduneli, N., & Kinane, D. F. (2011). Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *Journal of clinical periodontology, 38*, 85-105.

104. Giannobile, W. V., Beikler, T., Kinney, J. S., Ramseier, C. A., Morelli, T., & Wong, D. T. (2009). Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontology 2000, 50*, 52.

105. Kinney, J. S., Ramseier, C. A., & Giannobile, W. V. (2007). Oral fluid–based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. *Annals of the New York academy of sciences, 1098*(1), 230-251.

106. Haus, E., & Touitou, Y. (1992). Principles of clinical chronobiology. *Biologic rhythms in clinical and laboratory medicine*, 6-34.

107. Smolensky, M. H., & D'alonzo, G. E. (1993). Medical chronobiology: concepts and applications. *American Review of Respiratory Disease, 147*, S2-S2.

108. Schulz, P. (2022). Biological clocks and the practice of psychiatry. *Dialogues in clinical neuroscience*.

109. Schulz, P., & Steimer, T. (2009). Neurobiology of circadian systems. *CNS drugs, 23*, 3-13.

110. Hofman, M. A. (2004). The brain's calendar: neural mechanisms of seasonal timing. *Biological Reviews, 79*(1), 61-77.

111. Dibner, C., Schibler, U., & Albrecht, U. (2010). The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annual review of physiology, 72*, 517-549.

112. Golombek, D. A., & Rosenstein, R. E. (2010). Physiology of circadian entrainment. *Physiological reviews, 90*(3), 1063-1102.

113. Wever, R. A. (2013). *The circadian system of man: results of experiments under temporal isolation*: Springer Science & Business Media.

114. Schibler, U., & Sassone-Corsi, P. (2002). A web of circadian pacemakers. *Cell, 111*(7), 919-922.

115. Moore MD, R. Y. (1997). Circadian rhythms: basic neurobiology and clinical applications. *Annual review of medicine, 48*(1), 253-266.

116. Welsh, D. K., Takahashi, J. S., & Kay, S. A. (2010). Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties. *Annual review of physiology, 72*, 551-577.

117. Hunt, T., & Sassone-Corsi, P. (2007). Riding tandem: circadian clocks and the cell cycle. *Cell, 129*(3), 461-464.

118. Bass, J., & Takahashi, J. S. (2010). Circadian integration of metabolism and energetics. *Science, 330*(6009), 1349-1354.

119. Mohawk, J. A., Green, C. B., & Takahashi, J. S. (2012). Central and peripheral circadian clocks in mammals. *Annual review of neuroscience, 35*, 445-462.

120. Cipolla-Neto, J., Amaral, F., Afeche, S. C., Tan, D., & Reiter, R. (2014). Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *Journal of pineal research, 56*(4), 371-381

121. Vyas, M. V., Garg, A. X., Iansavichus, A. V., Costella, J., Donner, A., Laugsand, L. E., and Hackam, D. G. (2012). Shift work and vascular events: systematic review and meta-analysis. *Bmj, 345*.

122. Kecklund, G., & Axelsson, J. (2016). Health consequences of shift work and insufficient sleep. *Bmj, 355*.

123. Giles, T. D. (2006). Circadian rhythm of blood pressure and the relation to cardiovascular events. *Journal of Hypertension, 24*, S11-S16.

124. Muller, J. E., Tofler, G., & Stone, P. (1989). Circadian variation and triggers of onset of acute cardiovascular disease. *Circulation, 79*(4), 733-743.

125. Millar-Craig, M., Bishop, C., & Raftery, E. (1978). Circadian variation of blood-pressure. *The Lancet, 311*(8068), 795-797.

126. Dallmann, R., Viola, A. U., Tarokh, L., Cajochen, C., & Brown, S. A. (2012). The human circadian metabolome. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 109*(7), 2625-2629.

127. Rudney, J. (1995). Does variability in salivary protein concentrations influence oral microbial ecology and oral health? *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, 6*(4), 343-367.

128. de Paula, F., Teshima, T. H. N., Hsieh, R., Souza, M. M., Nico, M. M. S., & Lourenco, S. V. (2017). Overview of human salivary glands: highlights of morphology and developing processes. *The Anatomical Record, 300*(7), 1180-1188.

129. Proctor, G. B. (2016). The physiology of salivary secretion. *Periodontology 2000, 70*(1), 11-25.

130. Liu, J., & Duan, Y. (2012). Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral oncology, 48*(7), 569-577.

131. Greabu, M., Battino, M., Mohora, M., Totan, A., Didilescu, A., Spinu, T., and Radulescu, R. (2009). Saliva--a diagnostic window to the body, both in health and in disease. *Journal of medicine and life, 2*(2), 124-132.

132. Zelles, T., Purushotham, K., Macauley, S., Oxford, G., & Humphreys-Beher, M. (1995). Concise review: saliva and growth factors: the fountain of youth resides in us all. *Journal of dental research, 74*(12), 1826-1832.

133. Shugars, D. C., & Wahl, S. M. (1998). The role of the oral environment in HIV-1 transmission. *The Journal of the American Dental Association, 129*(7), 851-858.

134. Newman, M. G., Takei, H., Klokkevold, P. R., & Carranza, F. A. (2018). *Newman and Carranza's Clinical periodontology E-book*: Elsevier Health Sciences.

135. Roblegg, E., Coughran, A., & Sirjani, D. (2019). Saliva: An all-rounder of our body. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 142*, 133-141.

136. Carpenter, G. H. (2013). The secretion, components, and properties of saliva. *Annual review of food science and technology, 4*, 267-276.

137. Guggenheimer, J., & Moore, P. A. (2003). Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *The journal of the american dental association, 134*(1), 61-69.

138. Shannon, I. (1972). The biochemistry of human saliva in health and disease. In (pp. 94-121): University of Michigan Press Ann Arbor.

139. Dawes, C. (1974). Rhythms in salivary flow rate and composition.

140. Llena Puy, M. C. (2006). The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis.

141. Mandel, I. D. (1989). The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *The Journal of the American Dental Association, 119*(2), 298-304.

142. Navazesh, M. (1993). Methods for collecting saliva. *Annals of the New York Academy of Sciences, 694*(1), 72-77.

143. Chicharro, J. L., Lucía, A., Pérez, M., Vaquero, A. F., & Ureña, R. (1998). Saliva composition and exercise. *Sports medicine, 26*(1), 17-27.

144. Marley, G., Kang, D., Wilson, E. C., Huang, T., Qian, Y., Li, X., and Ma, W. (2014). Introducing rapid oral–fluid HIV testing among high risk populations in Shandong, China: feasibility and challenges. *BMC public health, 14*(1), 1-7.

145. Cardoso, E. M., Arregger, A. L., Tumilasci, O. R., Elbert, A., & Contreras, L. N. (2009). Assessment of salivary urea as a less invasive alternative to serum determinations. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation, 69*(3), 330-334.

146. De La Peña, V. A., Dios, P. D., & Sierra, R. T. (2007). Relationship between lactate dehydrogenase activity in saliva and oral health status. *Archives of oral biology, 52*(10), 911-915.

147. Kibayashi, M., Tanaka, M., Nishida, N., Kuboniwa, M., Kataoka, K., Nagata, H., and Shizukuishi, S. (2007). Longitudinal study of the association between smoking as a periodontitis risk and salivary biomarkers related to periodontitis. *Journal of periodontology, 78*(5), 859-867.

148. Kaufman, E., & Lamster, I. B. (2002). The diagnostic applications of saliva—a review. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, *13*(2), 197-212.

149. Raggam, R. B., Wagner, J., Michelin, B. D., Putz-Bankuti, C., Lackner, A., Bozic, M., and Kessler, H. H. (2008). Reliable detection and quantitation of viral nucleic acids in oral fluid: liquid phase-based sample collection in conjunction with automated and standardized molecular assays. *Journal of medical virology, 80*(9), 1684-1688.

150. Nunes, L. A. S., Brenzikofer, R., & Macedo, D. V. (2011). Reference intervals for saliva analytes collected by a standardized method in a physically active population. *Clinical biochemistry, 44*(17-18), 1440-1444.

151. Nunes, L. A. S., & Macedo, D. V. d. (2013). Saliva as a diagnostic fluid in sports medicine: potential and limitations. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, 49*, 247-255.

152. Papacosta, E., & Nassis, G. P. (2011). Saliva as a tool for monitoring steroid, peptide and immune markers in sport and exercise science. *Journal of Science and Medicine in Sport, 14*(5), 424-434.

153. Rao, P. V., Reddy, A. P., Lu, X., Dasari, S., Krishnaprasad, A., Biggs, E., and Nagalla, S. R. (2009). Proteomic identification of salivary biomarkers of type-2 diabetes. *Journal of proteome research, 8*(1), 239-245.

154. Nater, U. M., & Rohleder, N. (2009). Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. *Psychoneuroendocrinology, 34*(4), 486-496.

155. Chianeh, Y. R., & Prabhu, K. (2014). Biochemical markers in saliva of patients with oral squamous cell carcinoma. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 4*, S33-S40.

156. Kämäräinen, S., Mäki, M., Tolonen, T., Palleschi, G., Virtanen, V., Micheli, L., & Sesay, A. M. (2018). Disposable electrochemical immunosensor for cortisol determination in human saliva. *Talanta, 188*, 50-57.

157. Gröschl, M., Köhler, H., Topf, H.-G., Rupprecht, T., & Rauh, M. (2008). Evaluation of saliva collection devices for the analysis of steroids, peptides and therapeutic drugs. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 47*(3), 478-486

158. Shirtcliff, E. A., Granger, D. A., Schwartz, E., & Curran, M. J. (2001). Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology, 26*(2), 165-173.

159. Granger, D. A., Shirtcliff, E. A., Booth, A., Kivlighan, K. T., & Schwartz, E. B. (2004). The “trouble” with salivary testosterone. *Psychoneuroendocrinology, 29*(10), 1229-1240.

160. Hansen, Å. M., Garde, A. H., & Persson, R. (2008). Sources of biological and methodological variation in salivary cortisol and their impact on measurement among healthy adults: a review. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation, 68*(6), 448-458.

161. Slots, J. (2017). Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontology 2000, 75*(1), 7-23.

162. Nagarajan, R., Miller, C. S., Dawson III, D., Al-Sabbagh, M., & Ebersole, J. L. (2015). Patient-specific variations in biomarkers across gingivitis and periodontitis. *PLoS One, 10*(9), e0136792.

163. Yarkac, F. U., Gokturk, O., & Demir, O. (2018). Effect of non-surgical periodontal therapy on the degree of gingival inflammation and stress markers related to pregnancy. *Journal of Applied Oral Science, 26*.

164. Essayan, D. M., Fox, C. C., Levi-Schaffer, F., Alam, R., & Rosenwasser, L. J. (1998). Biologic activities of IL-1 and its role in human disease. *Journal of allergy and clinical immunology, 102*(3), 344-350.

165. Scannapieco, F., Ng, P., Hovey, K., Hausmann, E., Hutson, A., & Wactawski-Wende, J. (2007). Salivary biomarkers associated with alveolar bone loss. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1098*(1), 496-497.

166. Afacan, B., Öztürk, V. Ö., Emingil, G., Köse, T., & Bostanci, N. (2018). Alarm anti-protease trappin-2 negatively correlates with proinflammatory cytokines in patients with periodontitis. *Journal of Periodontology, 89*(1), 58-66.

167. Kahle, P., Saal, J., Schaudt, K., Zacher, J., Fritz, P., & Pawelec, G. (1992). Determination of cytokines in synovial fluids: correlation with diagnosis and histomorphological characteristics of synovial tissue. *Annals of the rheumatic diseases, 51*(6), 731-734.

168. Toker, H., Poyraz, O., & Eren, K. (2008). Effect of periodontal treatment on IL-1β, IL-1ra, and IL-10 levels in gingival crevicular fluid in patients with aggressive periodontitis. *Journal of clinical periodontology, 35*(6), 507-513.

169. Cacabelos, R., Barquero, M., Garcia, P., Alvarez, X., & Varela de Seijas, E. (1991). Cerebrospinal fluid interleukin-1 beta (IL-1 beta) in Alzheimer's disease and neurological disorders. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology, 13*(7), 455-458.

170. Damas, P., Reuter, A., Gysen, P., Demonty, J., Lamy, M., & Franchimont, P. (1989). Tumor necrosis factor and interleukin-1 serum levels during severe sepsis in humans. *Critical care medicine, 17*(10), 975-978.

171. Gedikbaşı, A., Şevketoğlu, E., Karyağar, S., Karyağar, S. S., Hatipoğlu, S. S., & Yılmaz, A. (2020). İdrar İnterlökin-1β Düzeyi Çocuklarda İdrar Yolu Enfeksiyonun Erken Belirteci Olarak Kullanılabilir. *Çocuk Dergisi, 20*(1), 1-6.

172. Takács, L., Kovacs, E., Smith, M., Young, H., & Durum, S. (1988). Detection of IL-1 alpha and IL-1 beta gene expression by in situ hybridization. Tissue localization of IL-1 mRNA in the normal C57BL/6 mouse. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950), 141*(9), 3081-3095.

173. Dinarello, C. A., & Wolff, S. M. (1993). The role of interleukin-1 in disease. *New England Journal of Medicine, 328*(2), 106-113.

174. He, Y., Hara, H., & Núñez, G. (2016). Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation. *Trends in biochemical sciences, 41*(12), 1012-1021.

175. Bent, R., Moll, L., Grabbe, S., & Bros, M. (2018). Interleukin-1 beta—a friend or foe in malignancies? *International journal of molecular sciences, 19*(8), 2155.

176. Assuma, R., Oates, T., Cochran, D., Amar, S., & Graves, D. (1998). IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *The Journal of Immunology, 160*(1), 403-409.

177. Boch, J., Wara-Aswapati, N., & Auron, P. (2001). CONCISE review biological: interleukin 1 signal transduction—current concepts and relevance to periodontitis. *Journal of dental research, 80*(2), 400-407.

178. Warren, J. S. (1990). Interleukins and tumor necrosis factor in inflammation. *Critical reviews in clinical laboratory sciences, 28*(1), 37-59.

179. Feghali, C. A., & Wright, T. M. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Frontiers in Bioscience-Landmark, 2*(4), 12-26.

180. Alexander, D. C., Martin, J. C., King, P. J., Powell, J. R., Caves, J., & Cohen, M. E. (1996). Interleukin-1 beta, prostaglandin E2, and immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy. *Journal of periodontology, 67*(8), 755-762.

181. Page, R. C. (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *Journal of periodontal research, 26*(3), 230-242.

182. Meikle, M. C., Atkinson, S. J., Ward, R. V., Murphy, G., & Reynolds, J. J. (1989). Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metal loproteinases. *Journal of periodontal research, 24*(3), 207-213.

183. Chaudhary, L. R., Spelsberg, T. C., & Riggs, B. L. (1992). Production of various cytokines by normal human osteoblast-like cells in response to interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha: lack of regulation by 17 beta-estradiol. *Endocrinology, 130*(5), 2528-2534.

184. Alexander, M. B., & Damoulis, P. D. (1994). The role of cytokines in the pathogenesis of periodontal disease. *Curr Opin Periodontol*, 39-53.

185. Pluıjm, G. V. D., Most, W., Wee-Pals, L. V. D., Groot, H. D., Papapoulos, S., & Löwık, C. (1991). Two distinct effects of recombinant human tumor necrosis factor-a on osteoclast development and subsequent resorption of mineralized matrix. *Endocrinology, 129*(3), 1596-1604.

186. Bertolini, D. R., Nedwin, G. E., Bringman, T. S., Smith, D. D., & Mundy, G. R. (1986). Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Nature, 319*(6053), 516-518.

187. Aurer, A., Jorgić-Srdjak, K., Plančak, D., Stavljenić-Rukavina, A., & Aurer-Koželj, J. (2005). Proinflammatory factors in saliva as possible markers for periodontal disease. *Collegium antropologicum, 29*(2), 435-439.

188. Hidalgo, M., & Eckhardt, S. G. (2001). Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. *Journal of the National Cancer Institute, 93*(3), 178-193.

189. Birkedal-Hansen, H. (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *Journal of periodontal research, 28*(7), 500-510.

190. Hannas, A. R., Pereira, J. C., Granjeiro, J. M., & Tjäderhane, L. (2007). The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontologica Scandinavica, 65*(1), 1-13.

191. Nagase, H., & Woessner, J. F. (1999). Matrix metalloproteinases. *Journal of Biological chemistry, 274*(31), 21491-21494.

192. Sorsa, T., Tjäderhane, L., Konttinen, Y. T., Lauhio, A., Salo, T., Lee, H. M., and Mäntylä, P. (2006). Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Annals of medicine, 38*(5), 306-321.

193. Jones, C. B., Sane, D. C., & Herrington, D. M. (2003). Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovascular research, 59*(4), 812-823.

194. Beaudeux, J.-L., Giral, P., Bruckert, E., Foglietti, M.-J., & Chapman, M. J. (2004). Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 42*(2), 121-131.

195. Mäntylä, P., Stenman, M., Kinane, D. F., Tikanoja, S., Luoto, H., Salo, T., & Sorsa, T. (2003). Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *Journal of periodontal research, 38*(4), 436-439.

196. Leppilahti, J., Ahonen, M. M., Hernández, M., Munjal, S., Netuschil, L., Uitto, V. J., and Mäntylä, P. (2011). Oral rinse MMP-8 point-of-care immuno test identifies patients with strong periodontal inflammatory burden. *Oral diseases, 17*(1), 115-122.

197. Kinane, D., Darby, I., Said, S., Luoto, H., Sorsa, T., Tikanoja, S., & Mäntylä, P. (2003). Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *Journal of periodontal research, 38*(4), 400-404.

198. El-Sharkawy, H., Aboelsaad, N., Eliwa, M., Darweesh, M., Alshahat, M., Kantarci, A., and Van Dyke, T. E. (2010). Adjunctive treatment of chronic periodontitis with daily dietary supplementation with omega-3 fatty acids and low-dose aspirin. *Journal of periodontology, 81*(11), 1635-1643.

199. Chrousos, G. P., & Gold, P. W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama, 267*(9), 1244-1252.

200. Hammond, G., Smith, C., & Underhill, D. (1991). Molecular studies of corticosteroid binding globulin structure, biosynthesis and function. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, 40*(4-6), 755-762.

201. Estrada-Y-Martin, R. M., & Orlander, P. R. (2011). Salivary cortisol can replace free serum cortisol measurements in patients with septic shock. *Chest, 140*(5), 1216-1222.

202. Goyal, S., Gupta, G., Thomas, B., Bhat, K., & Bhat, G. (2013). Stress and periodontal disease: The link and logic!! *Industrial psychiatry journal, 22*(1), 4.

203. Cupps, T. R., & Fauci, A. S. (1982). Corticosteroid-mediated immunoregulation in man. *Immunological reviews, 65*, 133-155.

204. Arafah, B. M., Nishiyama, F. J., Tlaygeh, H., & Hejal, R. (2007). Measurement of salivary cortisol concentration in the assessment of adrenal function in critically ill subjects: a surrogate marker of the circulating free cortisol. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 92*(8), 2965-2971.

205. Gozansky, W., Lynn, J., Laudenslager, M., & Kohrt, W. (2005). Salivary cortisol determined by enzyme immunoassay is preferable to serum total cortisol for assessment of dynamic hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity. *Clinical endocrinology, 63*(3), 336-341.

206. Vining, R. F., McGinley, R. A., Maksvytis, J. J., & Ho, K. Y. (1983). Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Annals of clinical biochemistry, 20*(6), 329-335.

207. Tietz, N. W. (1995). Clinical guide to laboratory tests. In *Clinical guide to laboratory tests* (pp. 1096-1096).

208. Durna, N. B., & Erdem, A. Edge-wıse teknik ve chin-cap tedavisine bağlı stres hormonlarındaki değişimin peryodik aralıklarla incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 30*(3), 464-475.

209. Botelho, J., Machado, V., Mascarenhas, P., Rua, J., Alves, R., Cavacas, M. A., and Mendes, J. J. (2018). Stress, salivary cortisol and periodontitis: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Archives of Oral Biology, 96*, 58-65.

210. Rosania, A. E., Low, K. G., McCormick, C. M., & Rosania, D. A. (2009). Stress, depression, cortisol, and periodontal disease. *Journal of periodontology, 80*(2), 260-266.

211. Rai, B., Kaur, J., Anand, S., & Jacobs, R. (2011). Salivary stress markers, stress, and periodontitis: a pilot study. *Journal of periodontology, 82*(2), 287-292.

212. Mengel, R., Bacher, M., & Flores-de-Jacoby, L. (2002). Interactions between stress, interleukin-1β, interleukin-6 and cortisol in periodontally diseased patients. *Journal of clinical periodontology, 29*(11), 1012-1022.

213. Xie, H., Zheng, X., Huang, Y., Li, W., Wang, W., Li, Q., and Lin, C.-q. (2022). Diurnal pattern of salivary alpha-amylase and cortisol under citric acid stimulation in young adults. *PeerJ, 10*, e13178.

214. Dawes, C. (1975). Circadian rhythms in the flow rate and composition of unstimulated and stimulated human submandibular saliva. *The Journal of physiology, 244*(2), 535-548.

215. Zhou, J. N., Liu, R. Y., van Heerikhuize, J., Hofman, M. A., & Swaab, D. F. (2003). Alterations in the circadian rhythm of salivary melatonin begin during middle-age. *Journal of pineal research, 34*(1), 11-16.

216. Fathi, Y., Hoseini, E. G., Atoof, F., & Mottaghi, R. (2021). Xerostomia (dry mouth) in patients with COVID-19: a case series. *Future Virology, 16*(5), 315-319.

217. Tonetti, M. S., & Sanz, M. (2019). Implementation of the new classification of periodontal diseases: Decision-making algorithms for clinical practice and education. *Journal of Clinical Periodontology, 46*(4), 398-405.

218. Silness, J., & Löe, H. (1964). Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta odontologica scandinavica, 22*(1), 121-135.

219. Löe, H., & Silness, J. (1963). Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta odontologica scandinavica, 21*(6), 533-551.

220. Ainamo, J., & Bay, I. (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International dental journal, 25*(4), 229-235.

221. Lindhe, J., Socransky, S., Nyman, S., Haffajee, A., & Westfelt, E. (1982). "Critical probing depths" in periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology, 9*(4), 323-336.

222. Pihlstrom, B. L. (1992). Measurement of attachment level in clinical trials: probing methods. *Journal of periodontology, 63*, 1072-1077.

223. Imamovic, M., Bäcklund, N., Lundstedt, S., Brattsand, G., Aardal, E., Olsson, T., & Dahlqvist, P. (2023). Confounding effects of liquorice, hydrocortisone, and blood contamination on salivary cortisol but not cortisone. *Endocrine Connections, 12*(1).

224. Al-Askar, M., Ajlan, S., Alomar, N., & Al-Daghri, N. M. (2018). Clinical and radiographic peri-implant parameters and whole salivary interleukin-1β and interleukin-6 levels among type-2 diabetic and nondiabetic patients with and without peri-implantitis. *Medical Principles and Practice, 27*(2), 133-138.

225. Norderyd, O., Hugoson, A., & Grusovin, G. (1999). Risk of severe periodontal disease in a Swedish adult population: a longitudinal study. *Journal of clinical periodontology, 26*(9), 608-615.

226. Abdellatif, H., & Burt, B. A. (1987). An epidemiological investigation into the relative importance of age and oral hygiene status as determinants of periodontitis. *Journal of dental research, 66*(1), 13-18.

227. Genco, R. J. (1996). Current view of risk factors for periodontal diseases. *Journal of periodontology, 67*, 1041-1049.

228. Grossi, S. G., Genco, R., Machtet, E., Ho, A., Koch, G., Dunford, R., and Hausmann, E. (1995). Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *Journal of periodontology, 66*(1), 23-29.

229. Grossi, S. G., Zambon, J. J., Ho, A. W., Koch, G., Dunford, R. G., Machtei, E. E., and Genco, R. J. (1994). Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *Journal of periodontology, 65*(3), 260-267.

230. Burt, B. A., Ismail, A. I., & Eklund, S. A. (1985). Periodontal disease, tooth loss, and oral hygiene among older Americans. *Community dentistry and oral epidemiology, 13*(2), 93-96.

231. Van Dyke, T. E., & Dave, S. (2005). Risk factors for periodontitis. *Journal of the International Academy of Periodontology, 7*(1), 3.

232. Eke, P. I., Dye, B., Wei, L., Thornton-Evans, G., & Genco, R. (2012). Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *Journal of dental research, 91*(10), 914-920.

233. Linden, G. J., Lyons, A., & Scannapieco, F. A. (2013). Periodontal systemic associations: review of the evidence. *Journal of periodontology, 84*, S8-S19.

234. Hyman, J. J., & Reid, B. C. (2004). Cigarette smoking, periodontal disease, and chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of periodontology, 75*(1), 9-15.

235. Fisher, M. A., & Taylor, G. W. (2009). A prediction model for chronic kidney disease includes periodontal disease. *Journal of periodontology, 80*(1), 16-23.

236. Tezal, M., Sullivan, M. A., Hyland, A., Marshall, J. R., Stoler, D., Reid, M. E., and Hauck, L. (2009). Chronic periodontitis and the incidence of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention, 18*(9), 2406-2412.

237. D'aiuto, F., Sabbah, W., Netuveli, G., Donos, N., Hingorani, A. D., Deanfield, J., & Tsakos, G. (2008). Association of the metabolic syndrome with severe periodontitis in a large US population-based survey. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 93*(10), 3989-3994.

238. Morita, I., Okamoto, Y., Yoshii, S., Nakagaki, H., Mizuno, K., Sheiham, A., & Sabbah, W. (2011). Five-year incidence of periodontal disease is related to body mass index. *Journal of dental research, 90*(2), 199-202.

239. De Pablo, P., Chapple, I. L., Buckley, C. D., & Dietrich, T. (2009). Periodontitis in systemic rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology, 5*(4), 218-224.

240. Garcia, R. I., Nunn, M. E., & Vokonas, P. S. (2001). Epidemiologic associations between periodontal disease and chronic obstructive pulmonary disease. *Annals of periodontology*, *6*(1), 71-77.

241. Fourrier, F., Duvivier, B., Boutigny, H., Roussel-Delvallez, M., & Chopin, C. (1998). Colonization of dental plaque: a source of nosocomial infections in intensive care unit patients. *Critical care medicine*, *26*(2), 301-308.

242. Scannapieco, F. A., Stewart, E. M., & Mylotte, J. M. (1992). Colonization of dental plaque by respiratory pathogens in medical intensive care patients. *Critical care medicine*, *20*(6), 740-745.

243. Teughels, W., Feres, M., Oud, V., Martín, C., Matesanz, P., & Herrera, D. (2020). Adjunctive effect of systemic antimicrobials in periodontitis therapy: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, *47*, 257-281.

244. Bobetsis, Y. A., Graziani, F., Gürsoy, M., & Madianos, P. N. (2020). Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes. *Periodontol 2000*, *83*(1), 154-174.

245. Rad, M., Kakoie, S., Brojeni, F. N., & Pourdamghan, N. (2010). Effect of long-term smoking on whole-mouth salivary flow rate and oral health. *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects*, *4*(4), 110.

246. Sakellari, D., Goodson, J., Socransky, S., Kolokotronis, A., & Konstantinidis, A. (2000). Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva. *Journal of clinical periodontology*, *27*(1), 53-60.

247. Cetinkaya, B., Guzeldemir, E., Ogus, E., & Bulut, S. (2013). Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*, *84*(1), 84-93.

248. Muñoz-Prieto, A., Rubić, I., Gonzalez-Sanchez, J. C., Kuleš, J., Martínez-Subiela, S., Cerón, J. J., and Mrljak, V. (2022). Saliva changes in composition associated to COVID-19: a preliminary study. *Scientific Reports*, *12*(1), 10879.

249. Rathnayake, N., Åkerman, S., Klinge, B., Lundegren, N., Jansson, H., Tryselius, Y., and Gustafsson, A. (2013). Salivary biomarkers of oral health–a cross-sectional study. *Journal of clinical periodontology*, *40*(2), 140-147.

250. Lang, N. P., Joss, A., Orsanic, T., Gusberti, F. A., & Siegrist, B. E. (1986). Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? *Journal of clinical periodontology*, *13*(6), 590-596.

251. Page, R. C., & Eke, P. I. (2007). Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *Journal of periodontology*, *78*, 1387-1399.

252. Sanikop, S., Patil, S., & Agrawal, P. (2012). Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase as a potential diagnostic marker of periodontal disease. *Journal of Indian Society of Periodontology*, *16*(4), 513.

253. Johannsen, A., Rylander, G., Söder, B., & Marie, Å. (2006). Dental plaque, gingival inflammation, and elevated levels of interleukin-6 and cortisol in gingival crevicular fluid from women with stress-related depression and exhaustion. *Journal of periodontology, 77*(8), 1403-1409.

254. Patil, P. B., & Patil, B. R. (2011). Saliva: A diagnostic biomarker of periodontal diseases. *Journal of Indian Society of Periodontology, 15*(4), 310.

255. Principe, S., Hui, A. B. Y., Bruce, J., Sinha, A., Liu, F. F., & Kislinger, T. (2013). Tumor-derived exosomes and microvesicles in head and neck cancer: implications for tumor biology and biomarker discovery. *Proteomics, 13*(10-11), 1608-1623.

256. Lamey, P., & Nolan, A. (1994). The recovery of human saliva using the Salivette system. *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry, 32*(9), 727-728.

257. Niedbala, R. S., Kardos, K. W., Fritch, D. F., Kunsman, K. P., Blum, K. A., Newland, G. A., and Cone, E. J. (2005). Passive cannabis smoke exposure and oral fluid testing. II. Two studies of extreme cannabis smoke exposure in a motor vehicle. *Journal of Analytical Toxicology, 29*(7), 607-615.

258. Quintela, O., Crouch, D. J., & Andrenyak, D. M. (2006). Recovery of drugs of abuse from the Immunalysis Quantisal™ oral fluid collection device. *Journal of Analytical Toxicology, 30*(8), 614-616.

259. Rai, B., Kaur, J., & Foing, B. H. (2012). Stress, workload and physiology demand during extravehicular activity: A pilot study. *North American Journal of Medical Sciences, 4*(6), 266.

260. Rapp-Santos, K. J., Altamura, L. A., Norris, S. L., Lugo-Roman, L. A., Rico, P. J., & Hofer, C. C. (2017). Comparison of saliva collection methods for the determination of salivary cortisol levels in rhesus macaques (Macaca mulatta), Cynomolgus macaques (Macaca fascicularis), and African green monkeys (Chlorocebus aethiops). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, 56*(2), 181-189.

261. Dubberke, A., Seipelt, C., & Hellhammer, J. Comparing cortisol levels of saliva samples collected with the passive drool collection method with the Salivette® Cortisol.

262. Hoek, G. H., Brand, H. S., Veerman, E. C., & Nieuw Amerongen, A. V. (2002). Toothbrushing affects the protein composition of whole saliva. *European journal of oral sciences, 110*(6), 480-481.

263. Inoue, K., Namiki, T., Iwasaki, Y., Yoshimura, Y., & Nakazawa, H. (2003). Determination of uric acid in human saliva by high-performance liquid chromatography with amperometric electrochemical detection. *Journal of Chromatography B, 785*(1), 57-63.

264. Aps, J. K., Van den Maagdenberg, K., Delanghe, J. R., & Martens, L. C. (2002). Flow cytometry as a new method to quantify the cellular content of human saliva and its relation to gingivitis. *Clinica chimica acta, 321*(1-2), 35-41.

265. Jaedicke, K. M., Taylor, J. J., & Preshaw, P. M. (2012). Validation and quality control of ELISAs for the use with human saliva samples. *Journal of immunological methods, 377*(1-2), 62-65.

266. Varghese, S. S., Thomas, H., Jayakumar, N., Sankari, M., & Lakshmanan, R. (2015). Estimation of salivary tumor necrosis factor-alpha in chronic and aggressive periodontitis patients. *Contemporary clinical dentistry, 6*(Suppl 1), S152.

267. Ababneh, K. T., Abu Hwaij, Z. M. F., & Khader, Y. S. (2012). Prevalence and risk indicators of gingivitis and periodontitis in a multi-centre study in North Jordan: a cross sectional study. *BMC oral health, 12*(1), 1-8.

268. Bozyel, B. *(2022). Periodontitis ve sigaranın dişeti oluğu sıvısı hipoksi ile indüklenen faktör seviyelerine etkisi, Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitisü , Ankara.*

269. Nayak, S. U., Nayak, D. G., Uppoor, A. S., & Pai, K. K. (2013). Evaluation of cortisol levels in gingival crevicular fluid and saliva in anxious and non-anxious patients with chronic periodontitis. *Dental Research Journal, 10*(4), 474.

270. Yang, M., Soh, Y., & Heo, S.-M. (2022). Characterization of Acidic Mammalian Chitinase as a Novel Biomarker for Severe Periodontitis (Stage III/IV): A Pilot Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 19*(7), 4113.

271. Relvas, M., Silvestre, R., Gonçalves, M., Cabral, C., Mendes-Frias, A., Monteiro, L., & Viana da Costa, A. (2023). Analysis of Salivary Levels of IL-1β, IL17A, OPG and RANK-L in Periodontitis Using the 2017 Classification of Periodontal Diseases—An Exploratory Observational Study. *Journal of Clinical Medicine, 12*(3), 1003.

272. Rai, B. (2008). Salivary levels of tumor necrosis factor-alpha in periodontitis. *Adv Med Dent Sci, 2*, 40-41.

273. Kavrama, L. (2018). Kronik periodontitisi olan bronşiyal astımlı bireylerin biyolojik sıvılarında çeşitli biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi, *Diş Hekimliği Uzmanlık Tezi,* Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, , Ankara.

274. Genco, R. J., Ho, A. W., Kopman, J., Grossi, S. G., Dunford, R. G., & Tedesco, L. A. (1998). Models to evaluate the role of stress in periodontal disease. *Annals of periodontology, 3*(1), 288-302

275. Hilgert, J., Hugo, F., Bandeira, D., & Bozzetti, M. (2006). Stress, cortisol, and periodontitis in a population aged 50 years and over. *Journal of dental research, 85*(4), 324-328.

276. Hoffman, J., Falk, B., Radom-Isaac, S., Weinstein, Y., Magazanik, A., Wang, Y., & Yarom, Y. (1996). The effect of environmental temperature on testosterone and cortisol responses to high intensity, intermittent exercise in humans. *European journal of applied physiology and occupational physiology, 75*, 83-87.

277. McFarlane, A. C., Barton, C. A., Yehuda, R., & Wittert, G. (2011). Cortisol response to acute trauma and risk of posttraumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology, 36*(5), 720-727

278. Gunnar, M. R., Talge, N. M., & Herrera, A. (2009). Stressor paradigms in developmental studies: What does and does not work to produce mean increases in salivary cortisol. *Psychoneuroendocrinology, 34*(7), 953-967.

279. Melin, E. O., Thunander, M., Landin-Olsson, M., Hillman, M., & Thulesius, H. O. (2014). Depression, smoking, physical inactivity and season independently associated with midnight salivary cortisol in type 1 diabetes. *BMC endocrine disorders, 14*(1), 1-10.

280. Carlesso, L. C., Sturgeon, J. A., & Zautra, A. J. (2016). Exploring the relationship between disease-related pain and cortisol levels in women with osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage, 24*(12), 2048-2054.

281. Dawes, C., & Ong, B. (1973). Circadian rhythms in the concentrations of protein and the main electrolytes in human unstimulated parotid saliva. *Archives of oral biology, 18*(10), 1233-1242.

282. Bozovic, D., Racic, M., & Ivkovic, N. (2013). Salivary cortisol levels as a biological marker of stress reaction. *Med Arch, 67*(5), 374-377.

283. Van Eck, M. M., & Nicolson, N. A. (1994). Perceived stress and salivary cortisol in daily life. *Annals of Behavioral Medicine, 16*(3), 221-227.

284. Wu, Y.-C., Ning, L., Tu, Y.-K., Huang, C.-P., Huang, N.-T., Chen, Y.-F., & Chang, P.-C. (2018). Salivary biomarker combination prediction model for the diagnosis of periodontitis in a Taiwanese population. *Journal of the Formosan Medical Association, 117*(9), 841-848.

285. Proctor, G., & Shaalan, A. (2021). Disease-induced changes in salivary gland function and the composition of saliva. *Journal of dental research, 100*(11), 1201-1209.

286. Chicharro, J. L., Lucía, A., Pérez, M., Vaquero, A. F., & Ureña, R. (1998). Saliva composition and exercise. *Sports medicine, 26*, 17-27.

287. Enberg, N., Alho, H., Loimaranta, V., & Lenander-Lumikari, M. (2001). Saliva flow rate, amylase activity, and protein and electrolyte concentrations in saliva after acute alcohol consumption. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *92*(3), 292-298.

288. Salvolini, E., Di Giorgio, R., Curatola, A., Mazzanti, L., & Fratto, G. (1998). Biochemical modifications of human whole saliva induced by pregnancy. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, *105*(6), 656-660.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 10.02.2022-E.288153

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

Sayı : E-21071282-050.99-288153
Konu : Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR - Etik Kurul Hk.

10.02.2022

Sayın Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR
Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanlığına

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna, etik açıdan değerlendirilmek üzere sorumlu araştırmacı Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR tarafından gönderilen "Tükürük İçerisindeki Enflamatuvar Belirteç Seviyelerinin Sirkadiyen Ritim İle İlişkisinin İncelenmesi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından 07.10.2021 tarih ve 19 No'lu toplantısında incelenerek araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Söz konusu çalışmanın etik kurul karar bilgileri "**07.10.2021 tarih ve GÜDHKAEK. 2021.19/5**"tir. İlgili çalışmada yardımcı araştırmacı olarak "**Doç. Dr. Sevim GÖNEN, Uzman Dt. Fatma SOYSAL ve Dt. Abdulnasır GÜRBÜZ**" bulunmaktadır.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
Kurul Başkanı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu :BS4CJUKNNZ
Belge Takip Adresi : https://www.turkiye.gov.tr/gazi-universitesi-ebys

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Bişkek Cad. No:4 kat 1 Emek/Ankara
Tel:0 (312) 203 40 00 Faks:0 (312) 223 92 26
e-Posta :dhfbilisim@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://dent.gazi.edu.tr
Bilgi için :N. Cihan Ünay
Birim Evrak Sorumlusu
Telefon No:(0312) 203 40 69

EK-1. (devam) Etik Kurul Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 07.10.2021-E.186386

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

Sayı : E-21071282-050.99-186386
Konu : Etik Kurul

07.10.2021

Sayın Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR
Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanlığına

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna, etik açıdan değerlendirilmek üzere gönderilen "Tükürük İçersindeki Enflamatuvar Belirteç Seviyelerinin Sirkadiyen Ritim İle İlişkisinin İncelenmesi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Önemli Not: Sağlık Bakanlığına başvuruda bulunacak çalışmaların, Kurulumuz tarafından incelenmiş ve onaylanmış **"Değerlendirilen Belgeler"** kısmında belirtilmiş olan **Tarih ve Versiyon/Revizyon numaralarının ve "Karar Bilgileri"** kısmında belirtilmiş olan **karar numarasının** yazılması gerekmektedir. Aksi takdirde Sağlık Bakanlığına teslim edilen belgelerde Tarih ve Versiyon/Revizyon numaralarında uyuşmazlık yaşanmaktadır ve bu nedenle dosyalar reddedilmektedir. Bu konuya önem verilmesi bilgilerinize sunulur.

Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
Kurul Başkanı

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

Belge Doğrulama Kodu :BSVC48T3C1

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Takip Adresi : https://belgedogrulama.gazi.edu.tr/belgedogrulama.aspx

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Bişkek Cad. No:4 kat 1 Emek/Ankara
Tel:0 (312) 203 40 00 Faks:0 (312) 223 92 26
e-Posta :dhfbilisim@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://dent.gazi.edu.tr

Bilgi için :N. Cihan Ünay
Birim Evrak Sorumlusu
Telefon No:(0312) 203 40 69

EK-1. (devam) Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR tarafından gönderilen "Tükürük İçersindeki Enflamatuvar Belirteç Seviyelerinin Sirkadiyen Ritim İle İlişkisinin İncelenmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Bişkek Caddesi 82.Sokak No:4 E Blok Zemin Kat Çankaya ANKARA
	TELEFON	0312 203 40 69
	FAKS	0312 203 41 39
	E-POSTA	disetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Perodontoloji Anabilim Dalı Başkanlığı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☒		
		Diğer ise belirtiniz			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK-1. (devam) Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR tarafından gönderilen "Tükürük İçersindeki Enflamatuvar Belirteç Seviyelerinin Sirkadiyen Ritim İle İlişkisinin İncelenmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	17.09.2021	VERSİYON 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	17.09.2021	VERSİYON 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	17.09.2021	VERSİYON 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	-	-	Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	17.09.2021 – VERSİYON 1
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER	☐	
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: GÜDHKAEK. 2021.19/5**	**Tarih: 07.10.2021**	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	**Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ**

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr.Tayfun ALAÇAM	Endodonti	Serbest Üye	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ (Etik Kurul Başkanı)	Çocuk Diş Hekimliği	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Burcu BALOŞ TUNCER	Ortodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Şebnem GÜLEN	Fizyoloji	Ufuk Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Orhan Mecit ULUDAĞ	Farmakoloji	Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Ferhan EĞİLMEZ (Bildirimlerden sorumlu olan üye)	Protetik Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mine Betül ÜÇTAŞLI	Restoratif Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. İlkay PEKER	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR (Etik kurul başkan yardımcısı)	Periodontoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
İmza

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK-1. (devam) Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR tarafından gönderilen "Tükürük İçersindeki Enflamatuvar Belirteç Seviyelerinin Sirkadiyen Ritim İle İlişkisinin İncelenmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Doç. Dr. Benay YILDIRIM	Oral Patoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
Dr. Öğr. Üyesi Hakan TÜZÜN	Halk Sağlığı	Gazi Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
Av. Efe AYAZ	Avukat	Serbest Avukat	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
İlker YAVUZ	Fotoğraf Eğitmeni	-	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK-2. Bilgilendirilmiş Hasta Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: ‘‘Tükürük İçerisindeki Enflamatuvar Belirteç Seviyelerinin Sirkadiyen Ritim ile İlişkisinin İncelenmesi’’

Danışman Öğretim Görevlisi: Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR

Sorumlu Araştırmacı Adı: Dt. Abdulnasır GÜRBÜZ

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında yürütülmekte olan ‘‘Tükürük İçerisindeki Enflamatuvar Belirteç Seviyelerinin Sirkadiyen Ritim ile İlişkisinin İncelenmesi’’ konulu araştırma amaçlı tez çalışmasına katılmanız istenmektedir.

Bu çalışmada amacımız; dişeti hastalıklarının kaynağı ve gelişiminin incelenmesinde sıklıkla tercih edilen iltihabi biyobelirteç düzeylerinin gün içinde nasıl etkilendiğini göstermektir. Çalışmaya Gazi Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalına kontrol ya da tedavi amaçlı başvuran, 18 yaş ve üzeri 40 gönüllü dahil edilecektir. Çalışma kapsamında dişeti sağlığınızın durumunu tespit etmek amacıyla dişlerinizin çevresinden ağrıya yol açmayacak şekilde ölçümler yapılacak ve tükürük örnekleri alınacaktır. 10.00 - 12.00 -14.00 - 16.00 - 18.00 ve 22.00 saatlerinde toplam 6 tükürük örneği alınacaktır. Örnek alınmadan 10 dk. önce ağızınızı suyla çalkalamanız istenecektir. Mesai saatleri içindeki numune alımları (10.00 - 12.00 -14.00 - 16.00) hekim kontrolünde yapılacaktır. Katılımcılardan oturur pozisyonda pamuk rulosunu Salivette ‘den çıkarmaları, ağızlarına koymaları ve 5 dakika çiğnemeden ağız tabanından tutulmaları istenecektir. Numune alımında herhangi bir dış teması önlemek için katılımcıların emilen tükürüklü ruloyu ellerini kullanmak yerine, ağızlarını kullanarak Salivette® içine koymaları istenecektir. Katılımcılara gerekli sözlü ve yazılı bilgilendirmeler yapıldıktan sonra 18.00 ve 22.00 saatlerinde alınacak örneklerin aydınlık ortamda kendileri tarafından alınmaları sağlanıp sonraki gün araştırmacıya ulaştırması istenecektir. Çalışmaya katılımınız, ölçümler ve örnekler alındıktan sonra son bulup size çalışma kapsamında herhangi başka bir müdahale yapılmayacaktır. Dişeti sağlığınızın durumu çalışma kapsamında saptanmış olduğundan, tedavi ihtiyacınız değerlendirilecek ve gereken tedaviniz kliniğimizce planlanıp uygulanacaktır.

Bu çalışma, araştırma amaçlı yapılmaktadır ve katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Bu form çalışmaya katılma kararı vermeden önce sizi araştırma hakkında bilgilendirmek amacıyla hazırlanmıştır. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra çalışmaya katılmanız durumunda bu belgeyi imzalamanız gerekmektedir. Bu araştırma Gazi Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalında, Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR sorumluluğu altında gerçekleştirilecektir. Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Bu formu imzalayıp çalışmaya katılsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmaya katılmayı bırakmakta özgürsünüz. Çalışmaya katılmak istemez veya çalışmadan ayrılmak isterseniz çalışmayı yürüten

EK-2. (devam) Bilgilendirilmiş Hasta Onam Formu

meslektaşlarımız tarafından olumsuz bir davranışla karşılaşmayacaksınız. Çalışmaya katılmanız sonucu herhangi bir mali yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

Bu çalışmada sizinle ilgili oluşabilecek çalışmayı etkileyebilen herhangi bir risk bulunmamaktadır. Örneklerin alınmasını takiben gerekli rutin tedavileriniz kliniğimizce sürdürülecektir. Çalışmayla ilgili ek bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Örneklerin İncelenmesi için Gazi Üniversitesi Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi Doku Tipleme ve Nefroloji Laboratuvarına sevk edilecektir. Elde edilen bilgiler talebiniz doğrultusunda sizinle paylaşılacaktır. Herhangi bir nedenden dolayı çalışma ile ilgili bilgi almak istediğinizde 0312 203 42 43 no'lu telefondan Dt. Abdulnasır Gürbüz'e ulaşabilirsiniz.

Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum. Tedavim öncesinde klinik ölçümler ve diş çevresi sıvı örnekleri alınabileceğini ve sonuçların kimlik bilgilerim saklı tutularak ve kişilik haklarıma saygı gösterilmek üzere bilimsel anlamda paylaşılabileceğini karşılıksız kabul ediyorum. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, etik kurul, kurum ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin orijinal tıbbi kayıtlarıma erişimine, bilgilerimin gizli tutulması koşuluyla izin veriyorum. Çalışmanın amacı ve sonuçları, karşılaşabileceğim olumlu ve olumsuz yönler Dt. Abdulnasır GÜRBÜZ tarafından bana açıklanmıştır.

Tarih:

Gönüllünün;
Adı Soyadı:
İmza:

Bilgilendirmeyi Yapan Hekimin:
Adı Soyadı:
İmza:

EK-3. Anamnez Formu

Anamnez Formu **(Versiyon.1/17.09.2021)**

Çalışma Grubu:
Hasta No:
Doğum Tarihi:
Cinsiyet:
Daha önce periodontal tedavi görmüş/En son ne zaman? : □ Evet ( )
□ Hayır

OHE verilmiş: □ Evet □ Hayır
Diş fırçalama sıklığı:
Çalışma düzeni: □ Gece vardiyası □ Gündüz vardiyası □ Nöbet
Son 1 ay içerisinde jetlag oldu mu? □ Evet □ Hayır
Uyku düzeni: Genellikle gece 12'den □ Önce uyurum. □ Sonra uyurum.
Dün gece saat …… 'de uyudum.
Genellikle sabahları saat …..'de uyanırım.
Bu sabah saat …….'de uyandım.

Sistemik Anamnez:

□ Kalp Hastalığı □ Hipertansiyon
□ Diyabet □ Kanama Problemi
□ Hepatit □ Hıv
□ İlaç Alerjisi □ Diğer
□ Epilepsi □ Sjögren
□ Hamilelik □ Emzirme
□ Parkinson □ Kanser Tedavisi
□ Radyoterapi □ Kemoterapi

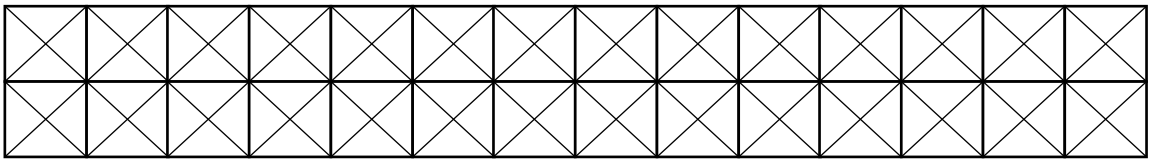
İlaç kullanımı:
Covid -19 hastalığını geçirmiş mi? Ne zaman? : □ Evet ( )
□ Hayır
Covid-19 hastalığına bağlı bir ilaç kullandı mı? □ Evet ( )
□ Hayır
Sigara Kullanımı: □ Evet □ Hayır

EK-4. Periodontal İndex Formu

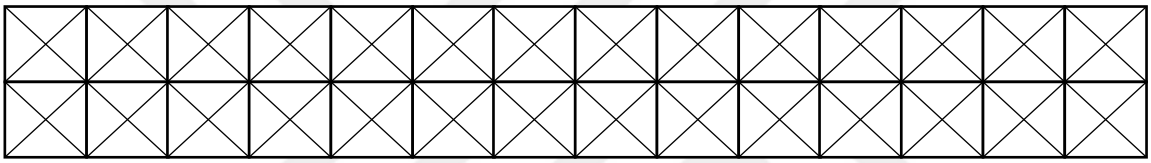
Hasta No:

Tarih:

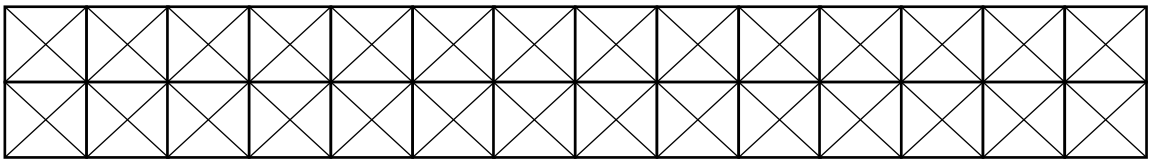
PLAK İNDEKSİ (PI- Silness&Löe,1964)



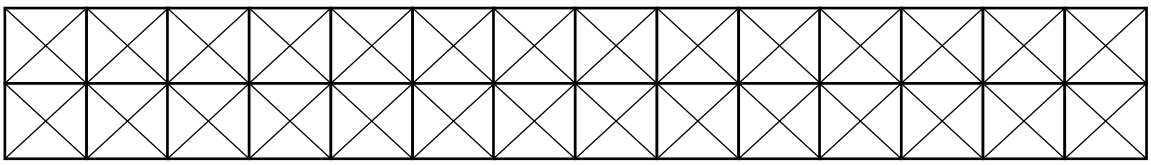
GİNGİVAL İNDEKS (GI-Löe&Silness,1963)



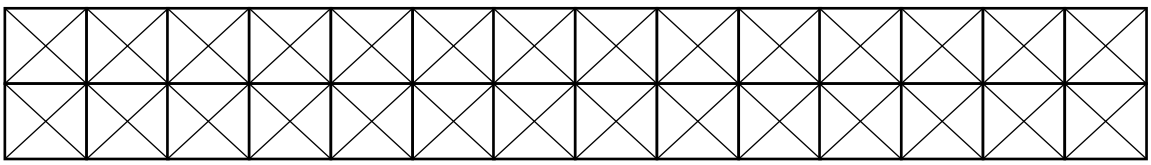
SONDLAMADA KANAMA İNDEKSİ (SK-Ainamo&Bay,1975)



PERİODONTAL CEP DERİNLİĞİ



KLİNİK ATAŞMAN SEVİYESİ



EK-4. (devam) Periodontal İndex Formu

Hasta No:

Tarih:

UYARILMAMIŞ TÜKÜRÜK	10.00 □	12.00 □	14.00 □	16.00 □	18.00 □	22.00 □

TÜKÜRÜK TİPİ	**SAATLER**	**IL-1β**	**TNF-α**	**MMP-8**	**KORTİZOL**
UYARILMAMIŞ TÜKÜRÜK	10.00				
UYARILMAMIŞ TÜKÜRÜK	12.00				
UYARILMAMIŞ TÜKÜRÜK	14.00				
UYARILMAMIŞ TÜKÜRÜK	16.00				
UYARILMAMIŞ TÜKÜRÜK	18.00				
UYARILMAMIŞ TÜKÜRÜK	22.00				

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : GÜRBÜZ, Abdulnasır
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Eğitim birimi	Mezuniyet Tarihi
Uzmanlık	Gazi Üniversitesi	Devam Ediyor
Lisans	Yüzüncü Yıl Üniversitesi	2015
Lise	Elazığ M. K. Anadolu Lisesi	2010

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2015-2018	Patnos Devlet Hastanesi	Diş Hekimi
2018-2020	Bingöl Ağız Diş Sağlığı Merkezi	Diş Hekimi

Yabancı Dil

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...