
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

PERİODONTİTİS VE SİGARANIN DİŞETİ OLUĞU SIVISI HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEN FAKTÖR SEVİYELERİNE ETKİSİ

Bejna BOZYEL

DOKTORA TEZİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ARALIK 2022

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.

Bejna BOZYEL

21.12.2022

PERİODONTİTİS VE SİGARANIN DİŞETİ OLUĞU SIVISI HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEN FAKTÖR SEVİYELERİNE ETKİSİ

(Doktora Tezi)

Bejna BOZYEL

GAZİ ÜNİVERİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2022

ÖZET

Periodontitisin periodontal dokuların hipoksisi üzerinde etkili olduğu ve periodontitis varlığında artmış HIF-1α seviyeleri çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Sigaranın doğrudan hipoksi ve iskemiye neden olan karboksihemoglobin miktarında artış meydana getirdiği ayrıca sigara dumanındaki karbonmonoksitin, dokulara taşınan O_2 miktarının azalmasına neden olduğu bildirilmiştir. Periodontolojide hipoksi mekanizmalarının anlaşılmasına yönelik çalışmaların az sayıda olduğu ve HIF-1α ile sınırlı kaldığı görülmüştür. Mevcut çalışmada sigara ve periodontitisin periodontal dokularda meydana getirdiği hipoksik değişiklikleri, dişeti oluğu sıvısı (DOS) hipoksi ile indüklenen faktörler (HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) seviyelerini değerlendirerek incelemek amaçlanmıştır. Çalışmaya periodontal sağlıklı sigara içmeyen (Grup S) 22 ve içen (Grup SS) 22, periodontitise sahip (Evre 3, Derece B veya C) sigara içmeyen (Grup P) 22 ve içen (Grup PS) 22 birey dahil edilmiştir. Klinik periodontal parametreler (plak indeksi, gingival indeks, sondlamada kanama indeksi, sondlamada cep derinliği, klinik ataşman seviyesi) kaydedilmiş, DOS örnekleri toplanmış ve ELISA yöntemi ile incelenmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda tüm periodontal klinik parametreler periodontitise sahip gruplarda, periodontal sağlıklı gruplara kıyasla anlamlı seviyede yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). S grubuna kıyasla SS, P ve PS gruplarında HIF-1α, HIF-3α ve VEGF total seviyeleri yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ek olarak S grubuna kıyasla SS ve P gruplarında daha yüksek HIF-2α total seviyeleri saptanmıştır ($p<0.05$). S grubuna kıyasla SS grubunda HIF-1α, HIF-2α ve VEGF konsantrasyon seviyeleri yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ayrıca PS grubunda da S grubuna kıyasla HIF-1α ve VEGF konsantrasyon seviyeleri yüksek tespit edilmiştir. ($p<0.05$). Çalışmadan elde edilen veriler sonucunda, HIF-2α ve HIF-3α'nın da HIF-1α gibi DOS'ta tespit edilebildiği görülmüştür. Sigara ve periodontitisin değerlendirilen biyobelirteçler açısından periodontal dokular üzerinde benzer hipoksik etkilere yol açtığı görülmüştür. Periodontal dokulardaki hipoksi mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi daha ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

Bilim Kodu : 10101
Anahtar Kelimeler : HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α, VEGF, Periodontitis, Sigara, Dişeti oluğu sıvısı
Sayfa Adedi : 138
Danışman : Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR

EFFECT OF PERIODONTITIS AND SMOKE ON GINGIVAL CREVICULAR FLUID HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR LEVELS

(Ph. D. Thesis)

Bejna BOZYEL

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

December 2022

ABSTRACT

Various studies have shown that periodontitis is effective on hypoxia of periodontal tissues and increased HIF-1α levels in the presence of periodontitis. Smoking has been reported to cause an increase in the amount of carboxyhemoglobin, which directly causes hypoxia and ischemia. Carbon monoxide in cigarette smoke has also shown to cause a decrease in the amount of O_2 transported to the tissues. Studies on better understanding of hypoxia mechanisms in periodontology are few and limited to HIF-1α. In the present study, it was aimed to evaluate the hypoxic changes caused by smoking and periodontitis in periodontal tissues via examining gingival crevicular fluid (GCF) hypoxia inducible factors (HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels. The study included periodontal healthy non-smokers (Group S) 22 and smokers (Group SS) 22, with periodontitis (Stage 3, Grade B or C) non-smoker (Group P) 22, and 22 smokers (Group PS) individuals. As a result of statistical analysis, all periodontal clinical parameters were found to be significantly higher in groups with periodontitis compared to healthy periodontal groups ($p<0.05$). Total levels of HIF-1α, HIF-3α and VEGF were found to be higher in the SS, P and PS groups compared to the S group ($p<0.05$). In addition, higher HIF-2α total levels were detected in the SS and P groups compared to the S group ($p<0.05$). Concentration levels of HIF-1α, HIF-2α and VEGF were higher in the SS group compared to the S group ($p<0.05$). In addition, HIF-1α and VEGF concentration levels were higher in the PS group compared to the S group ($p<0.05$). In conclusion, HIF-2α and HIF-3α have also been detected in DOS, as has HIF-1α. It has been observed that smoking and periodontitis cause similar hypoxic effects on periodontal tissues in terms of evaluated biomarkers. Further research is needed to better understand the hypoxia mechanism in periodontal tissues.

Science Code : 10101
Key Words : HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α, VEGF, Periodontitis, Smoking, Gingival crevicular fluid
Page Number : 138
Supervisor : Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR

TEŞEKKÜR

Doktora sürecimin eğitim hayatımın en güzel zamanlarından biri olarak geçmesini sağlayan, her anımda bilgisi, sevgisi ve desteğini arkamda hissettiğim, öğrencisi olmayı şansım olarak gördüğüm, akademisyenliğinin yanında hayattaki duruşu ile de bizlere çok şey öğreten sevgili tez danışmanım sayın Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR'e,

Bilgi ve deneyimlerini bizlerle içtenlikle paylaşan, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum hocalarım sayın Prof. Dr. Mehmet YALIM, Prof. Dr. F. Berrin ÜNSAL, Prof. Dr. M. Bülent KURTİŞ, Prof. Dr. S. Elif GÜLTEKİN, Prof. Dr. A. Emel ÖKTE ve Periodontoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Tezimin laboratuvar aşamalarında desteklerini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Özlem DOĞAN ve Prof. Dr. Serenay ELGÜN ÜLKAR'a,

Meslek hayatım boyunca desteğini hissettiğim sayın büyüğüm Dr. Dt. Mehmet BOZYEL ve her türlü bilgi ve tecrübesini aktarırken akademisyenliğinin yanında abiliğini de hissettiren sayın Prof. Dr. Sermet ŞAHİN'e,

Asistanlık sürecimi güzelleştiren ve birlikte çalışmaktan keyif aldığım sevgili Dt. Gülşah KARA, Dr. Dt. Beste İLASLAN HALLAÇ, Dt. Yusuf TATOĞLU, Dt. Abdulnasır GÜRBÜZ, Dt. Ahmet Çağlar KALKAN, Dr. Dt. Hikmat BAKHISHOV, Dr. Dt. Özge UZUNER BİLGİÇ ve Dr. Öğr. Üyesi Cenkhan BAL başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma ve Anabilim Dalı personellerine,

Hayatım boyunca yolumu doğru ve merhamet ile aydınlatan, sevgi ve özverileri ile bugünlere gelmemi sağlayan hayattaki en değerlilerim annem, babam ve kardeşime; hayatımın her anında desteklerini arkamda hissettiğim sevgili teyze ve dayılarıma sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitim sürecime olan katkılarından dolayı YÖK 100/2000 Doktora Projesine ve TÜBİTAK BİDEB 2211 Yurt içi Doktora Burs Programına teşekkürler.

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından "03/2020-15" proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ x

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xii

RESİMLERİN LİSTESİ xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR xiv

1.GİRİŞ 1

2.GENEL BİLGİLER 3

2.1. Periodontal Hastalıklar ve Etiyolojisi 3

2.1.1. Periodontal hastalıkların etiyolojisi 4

2.1.2. Periodontal hastalıkların epidemiyolojisi 6

2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması 7

2.2.1. 1999 AAP periodontal hastalık sınıflandırılması 8

2.2.2. 2017 EFP/AAP periodontal ve peri-implant hastalıklar ve durumların sınıflandırılması 12

2.3. Periodontal Hastalıkların Patogenezi 19

2.4. Dişeti Oluğu Sıvısı 22

2.4.1. Dişeti oluğu sıvısı içeriği 24

2.4.2. Dişeti oluğu sıvısı örnekleme yöntemleri 28

2.4.3. Dişeti oluğu sıvısı hacim belirleme yöntemleri 29

2.5. Sigara 30

2.5.1. Sigara ve hipoksi 31

2.5.2. Sigaranın periodontal dokulara etkisi 32

Sayfa

2.5.3. Sigara ve periodontal hastalık 33
2.6. Hipoksi 35
2.6.1. Hipoksi ve periodontal cep 36
2.6.2. Hipoksi ve kronik enflamasyon 37
2.6.3. Hipoksinin periodontal dokulara etkisi 37
2.7. Hipoksi ile İndüklenen Faktör Ailesi (HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α) 39
2.8. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) 51
3.GEREÇ VE YÖNTEM 55
3.1. Hasta Seçimi 55
3.2. Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması 56
3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması 56
3.4. Çalışma Planı 57
3.5. Klinik İndeksler ve Ölçümler 58
3.6. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Elde Edilmesi 59
3.7. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin İncelenmesi 60
3.8. İstatistiksel Yöntem 63
4.BULGULAR 65
4.1. Demografik Bulgular 65
4.2. Klinik Bulgular 66
4.2.1. Tüm ağız klinik periodontal bulgular 67
4.2.2. Örnek bölgelerine ait klinik periodontal bulgular 67
4.3. Laboratuvar Bulguları 68
4.3.1. Dişeti oluğu sıvısı HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF düzeyleri 68
4.4. Periodontal Klinik Verilerin ve Laboratuvar Verilerinin Korelasyon Analizleri 73
4.4.1. Periodontal sağlıklı, sigara içmeyen gruba (Grup S) ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi 73

Sayfa

4.4.2. Periodontal sağlıklı, sigara içen gruba (Grup SS) ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi 76

4.4.3. Periodontitise sahip, sigara içmeyen gruba (Grup P) ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi 78

4.4.4. Periodontitise sahip, sigara içen gruba (Grup PS) ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi 80

4.4.5. Tüm gruplara ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi 82

5.TARTIŞMA 85

6.SONUÇ VE ÖNERİLER 101

KAYNAKLAR 103

EKLER 127

EK-1. Etik Kurul Kararı 128

EK-2. Bilgilendirilmiş Hasta Onam Formu 132

EK-3. Anamnez Formu 134

EK-4. Periodontal İndeks Formu 135

ÖZGEÇMİŞ 136

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Periodontal hastalık sınıflandırılmalarının kronolojik listesi 8

Çizelge 2.2. 1989 Dünya klinik periodontoloji çalıştayı sınıflandırması 8

Çizelge 2.3. 1999 AAP periodontal hastalık sınıflandırılması 9

Çizelge 2.4. 2017 EFP/AAP periodontal ve peri-implant hastalıklar ve durumların sınıflandırılması 12

Çizelge 2.5. 2017 EFP/AAP periodontal sağlık, gingival hastalıklar ve durumların sınıflandırılması 13

Çizelge 2.6. Plak ile ilişkili periodontal hastalıklar için periodontal sağlığın sonuçları 15

Çizelge 2.7. 2017 EFP/AAP periodontitisin sınıflandırılması 15

Çizelge 2.8. Periodontitis evreleri 17

Çizelge 2.9. Periodontitis dereceleri 19

Çizelge 2.10. DOS içeriğindeki bileşenler 27

Çizelge 2.11. Sigaranın periodontal dokulara etkisi 33

Çizelge 2.12. Oksijen (O_2) seviyelerinin tanımlanması 36

Çizelge 2.13. HIF seviyelerinin incelendiği in-vitro araştırmalar 44

Çizelge 2.14. HIF seviyelerinin incelendiği deneysel araştırmalar 46

Çizelge 2.15. HIF seviyelerinin incelendiği in-vivo araştırmalar..... 48

Çizelge 4.1. Gönüllülerin yaş ortalamalarının çalışma gruplarına göre dağılımı..... 65

Çizelge 4.2. Gönüllülerin cinsiyetlerinin çalışma gruplarına göre dağılımı..... 65

Çizelge 4.3. Gönüllülerin günlük içilen sigara miktarlarının ve sigara içilen yıl sürelerinin çalışma gruplarına göre dağılımı 66

Çizelge 4.4. Gönüllülerin diş fırçalama sıklıklarının çalışma gruplarına göre dağılımı. 66

Çizelge 4.5. Tüm ağız klinik parametreleri 67

Çizelge 4.6. Örnek bölgelerine ait klinik parametreler..... 68

Çizelge 4.7. DOS HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF total düzeyleri 69

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.8. DOS HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF konsantrasyonları 71

Çizelge 4.9. Periodontal sağlıklı, sigara içmeyen gruba (Grup S) ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri 75

Çizelge 4.10. Periodontal sağlıklı, sigara içen gruba (Grup SS) ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri 77

Çizelge 4.11. Periodontitise sahip, sigara içmeyen gruba (Grup P) ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri 79

Çizelge 4.12. Periodontitise sahip, sigara içen gruba (Grup PS) ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri 81

Çizelge 4.13. Tüm gruplara ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi 83

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Mariotti ve Hefti'ye göre (2015) periodontal sağlığı etkiyebilecek faktörler a: Biyolojik faktörler, b: Çevresel ve sistemik faktörler, c: Diğer değiştirilebilir faktörler 4

Şekil 2.2. Periodontal hastalık patogenezi 20

Şekil 2.3. Dişeti oluğu sıvısı akışı 23

Şekil 2.4. Sigaranın neden olduğu biyokimyasal değişiklikler 31

Şekil 2.5. Periodontitis varlığında periodontal cep derinliği artışı bölgede disbiyozis ile paralel gelişirken, enflamasyonun artması ve oksijen basıncının (pO_2) düşmesine yol açmaktadır 37

Şekil 2.6. Vasküler gelişim aşamaları ve yer alan HIF hedef genleri 41

Şekil 2.7. VEGF aracılığı ile gerçekleşen patolojik ve fizyolojik süreçler 52

Şekil 2.8. VEGF'nin enflamatuar periodontal hastalıklardaki rolü 53

Şekil 3.1. Gönüllü sayısının belirlenebilmesi için yapılan güç analizi 56

Şekil 3.2. Araştırma akış şeması 57

Şekil 3.3. Standart solüsyon için protokol 62

Şekil 4.1. DOS HIF-1α total düzeyleri 69

Şekil 4.2. DOS HIF-2α total düzeyleri 70

Şekil 4.3. DOS HIF-3α total düzeyleri 70

Şekil 4.4. DOS VEGF total düzeyleri 70

Şekil 4.5. DOS HIF-1α konsantrasyon düzeyleri 72

Şekil 4.6. DOS HIF-2α konsantrasyon düzeyleri 72

Şekil 4.7. DOS HIF-3α konsantrasyon düzeyleri 72

Şekil 4.8. DOS VEGF konsantrasyon düzeyleri 73

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 2.1. Hassas tartı 29

Resim 2.2. Periotron 8000 cihazı 30

Resim 3.1. DOS örneklerinin toplanması 60

Resim 3.2. ELISA kiti 61

Resim 3.3. a: ELISA yıkayıcısında mikroplak görünümü, b: Kuyucuklara substrat solüsyonu eklendikten sonra mikroplak görünümü, c: Kuyucuklara durdurma solüsyonu eklenirken mikroplak görünümü 63

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**
AAP	Amerikan Periodontoloji Akademisi (American Academy of Periodontology)
AgP	Agresif Periodontitis
ATP	Adenozin Trifosfat
CD	Cep Derinliği
COX-2	Cyclooxygenase-2 (Siklooksijeneaz-2)
DOS	Dişeti Oluğu Sıvısı
EFP	Avrupa Periodontoloji Federasyonu (European Federation of Periodontology)
ELISA	Enzime bağlı immünosorbent analizi (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)
EPO	Eritroprotein
Gİ	Gingival İndeks
HbA1c	Hemoglobin A1c

Kısaltmalar	Açıklamalar
HIF	Hipoksi ile İndüklenen Faktör (Hypoxia Inducible Factor)
İFN	İnterferon
İL	İnterlökin
KAS	Klinik Ataşman Seviyesi
KP	Kronik Periodontitis
LPS	Lipopolisakkaritler
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NF-KB	Nükleer Faktör- KappaB
O_2	Oksijen
OPG	Osteoprotegerin
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PDLFH	Periodontal Ligament Fibroblast Hücreleri
PDLH	Periodontal Ligament Hücreleri
PDLKH	Periodontal Ligament Kök Hücreleri
PGE2	Prostoglandin E2
Pİ	Plak İndeksi
PMN	Polimorfonükleer Nötrofil
pO_2	Parsiyel oksijen basıncı
RANKL	Nükleer Faktör-KappaB'nin reseptör aktivatörü (Receptor Activator of Nücleer Faktör-KappaB Ligand)
ROS	Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
RT-PCR	Reverse Traskriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)
SK	Sondlamada Kanama
TIMP-1	MMP-1'in doku inhibitörü (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1)
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör- α
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growt Factor)

1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar, dişeti, periodontal ligament, alveol kemiği ve sementin oluşturduğu periodonsiyumun bakteriyel olarak indüklenen kronik enflamasyonudur. Periodonsiyumda meydana gelen bu yıkım, diş kaybının en önemli nedenlerinden biridir [1]. Periodontal hastalıkların çeşitli formları bulunmaktadır ve periodontitis bunlar arasında en çok karşılaştığımız formudur. 2017 Amerikan Periodontoloji Akademisi (American Academy of Periodontology, AAP) ve Avrupa Periodontoloji Federasyonu (European Federation of Periodontology, EFP) tarafından düzenlenen son periodontal hastalık sınıflandırılmasına göre; periodontal sağlık enflamatuar periodontal hastalıktan arındırılmış durum olarak, periodontitis ise komşu olmayan en az 2 dişte interdental alanda 3mm ve üzeri ataşman kaybı, dişlerde artmış cep derinliği ve alveolar kemik kaybı ile tanımlanmıştır [2]. Mikrobiyal dental plağın primer etiyolojik faktör olduğu bilinen periodontitiste, konağın enflamatuar cevabı ve sigara gibi çeşitli faktörlerin periodontal hastalığın şiddetinde ve hızında etkili olabildiği bilinmektedir [3, 4].

Sigara, bozulmuş polimorfonükleer nötrofil (PMN) fonksiyonu [5], PMN'ler tarafından değiştirilmiş oksijen radikali üretimi [6], değişmiş gingival fibroblast fonksiyonu [7] ve osteoklastların stimülasyonu ile ilişkilendirilmiştir [8]. Sigaranın periodontal dokularda meydana getirdiği en önemli etki, yapısında bulunan nikotinin damarlarda yaptığı vazokonstrüksiyon ile dokulara kanın ve oksijenin yeterli miktarlarda taşınmasını engellemesidir [9]. Bu etki ile lokalize mukozal alanların hipoksik olmasına, anormal enflamasyona, gaz dengesi anormalliklerine ve çeşitli organ sistemlerinde hipoksiye neden olabilir [10, 11]. Periodontitise sahip sigara içen ve içmeyen bireylerin değerlendirildiği çalışmalarda; sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla 2,6-6 kat fazla periodontal yıkım görüldüğü ve periodontal tedaviye yanıtın daha az olduğu bildirilmiştir [12, 13]. Sigara kullanan bireylerde ödem, gingival indeks (Gİ), sondlamada kanama (SK) skorları gibi klinik ile ilişkili bulguların azalmış olması sigaranın neden olduğu kronik anjiogenik baskılanma ile ilişkili bulunmuştur [14].

Hücre içi oksijen düzeyleri belirli bir seviyenin altına düştüğünde, hipoksi ile indüklenebilir faktörler (HIF), oksijen tüketimini azaltmak ve genetik hipoksi yanıt yolunun düzenlenmesi ile oksijen kullanılabilirliğini artırmak için kademeli mekanizmaları başlatır ve düzenler [15]. HIF-1, HIF-2 ve HIF-3 olarak tanımlanmış 3 adet HIF proteini arasında en çok

araştırılanı HIF-1α'dır. Hipoksi, vasküler tonusu düzenler ve anjiyogenez için güçlü bir uyarıcıdır [16]. Hipoksik koşullar altına aktive olan HIF-1α glikoliz, eritropoez ve anjiyogenezi düzenleyerek oksijen homeostazının geri kazanılmasına yardımcı olur [17]. VEGF ve diğer pro-anjiyogenetik faktörlerin indüksiyonu, vasküler yoğunluğu artırır ve oksijen difüzyon mesafesini düşürür [18, 19]. VEGF, hipoksik koşullarda endotelyal hücrelerin proliferasyonunu stimüle ederek doğrudan anjiyogenezin içinde yer alır.

Periodontal hastalıkların patogenezindeki temel mekanizmaları anlamaya yönelik çalışmalarda bölgeye özgü olması nedeniyle sıklıkla transüda ya da lokal enflamatuar eksüda olan dişeti oluğu sıvısı (DOS) örneklerinden yararlanılmaktadır [20]. DOS periodonsiyumdaki sağlık ve hastalık durumlarının teşhis ve prognozuna yönelik küçük organik moleküller, proteinler, spesifik antikorlar, antijenler, bakteri ve konak kaynaklı enzimler olmak üzere birçok biyokimyasal faktör içermektedir [21, 22]. DOS içeriğinin; periodontal hastalıklar, sistemik hastalıklar, ilaç ve sigara kullanımı gibi çeşitli faktörlerden etkilendiği bilinmektedir [22].

Literatür tarandığında periodontal hastalıklarda HIF seviyelerini inceleyen az sayıda çalışma olduğu [23-25] ve sigaranın periodontal dokularda neden olduğu hipoksik değişikliklerin DOS aracılığı ile incelenmediği göze çarpmıştır. Sigaranın dokulara taşınan kanı ve O_2'ni azaltarak doğrudan hipoksiye neden olduğu bildirildiğinden [9], sigaranın etkisinin hipoksik belirteçler açısından DOS'ta değerlendirilmemesi bir eksiklik olarak görülmüştür. Diğer yandan periodontal enflamasyon varlığında artan DOS HIF-1α total miktarlarının tespit edilmesinin [26-28], HIF ailesindeki diğer belirteçlerin de periodontal hastalık patogenezinde rolü olabileceğini düşündürtmüştür.

Bütün bu bilgiler ışığında, çalışmamızda, periodontitis ve sigaranın DOS içeriğinde hipoksi ile indüklenen faktörler (HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) seviyeleri üzerinde meydana getirdiği değişiklikleri değerlendirmek amaçlanmıştır. Literatür bilgilerimiz dahilinde bu çalışma periodontitis ve periodontal sağlıkta HIF-2α ve HIF-3α seviyelerini değerlendiren ve sigaranın DOS'ta HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α seviyelerinde meydana getirdiği değişiklikleri inceleyen ilk çalışmadır.

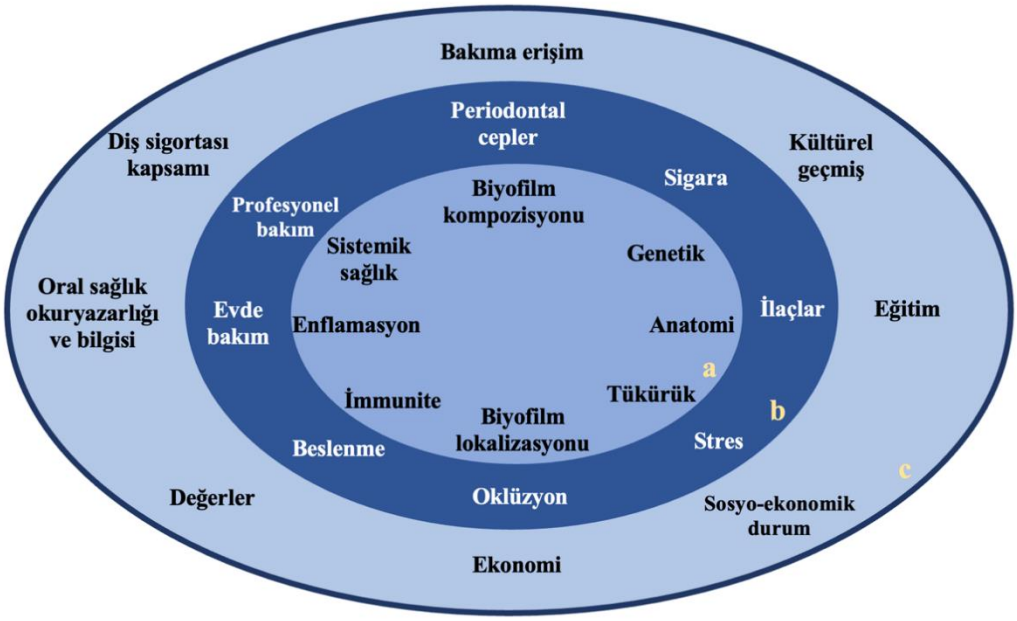
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalıklar ve Etiyolojisi

Periodontal hastalıklar, diş yüzeyindeki plak birikimi, bakteri / bakteri ürünlerine cevap oluşturan konak yanıtı ve enflamasyonla karakterize, periodontal ligament, dişeti, sement ve alveol kemiği gibi diş destek dokularının etkilendiği, periodontal yumuşak dokuların iltihabından, alveolar kemiğin yıkımı ve kaybına kadar uzanan lokal, kronik, enflamatuar ve multifaktöriyel hastalıklardır [29, 30].

Periodontal hastalıkların başlaması ve ilerlemesi lokal, sistemik, genetik, çevresel ve davranışsal risk faktörleri ile ilişkilendirilmiştir [3]. Lokal faktörler; anatomik koşullar, oklüzyon ilişkileri, ortodontik apareyler ve hatalı restorasyonlar gibi bakteri plak retansiyonuna neden olan durumları kapsar. Oklüzal travmanın, periodontitisin mevcut olduğu enflamatuar alveolar kemik yıkımını hızlandıran bir faktör olduğu ileri sürülmüştür [31]. Periodontal ligamentteki fizyolojik kan akışının, pulpal veya serebral kan akışınınkinden daha düşük olduğu bilinmektedir ve buradaki kan akışının oklüzal kuvvetler tarafından da azaltılabildiği bildirilmiştir [32, 33]. Ek olarak, ortodontik tedaviler, parafonksiyonel alışkanlıklar, çiğneme fonksiyonları gibi mekanik kuvvetler de kan damarlarında meydana getirdikleri deformasyon sonucu periodontal hastalıktan etkilenmiş dokularda iskemiye neden olabilir [34]. Sistemik faktörler; yaş, diyabet, beslenme, kullanılan ilaçlar ve lösemi, metabolik sendrom, kazanılmış bağışıklık yetersizliği sendromu (AIDS) gibi sistemik hastalıklar ile ilişkilidir. Çevresel faktörler ise sigara, stres ve alkol ile ilişkilendirilmiştir. [35]

Mariotti ve Hefti (2015), periodontal sağlığı etkileyebilecek faktörleri üç katmanlı bir model ile ele almıştır; iç katman doğrudan katkıda bulunan biyolojik faktörleri, orta katman biyolojik yapıyı etkileyebilecek çevresel ve sistemik faktörleri, dış katman ise çevresel ve sistemik faktörleri etkileyebilecek diğer değiştirilebilir faktörleri içermektedir (Şekil 2.1) [36].



Şekil 2.1. Mariotti ve Hefti'ye göre (2015) periodontal sağlığı etkiyebilecek faktörler [36] a: Biyolojik faktörler, b: Çevresel ve sistemik faktörler, c: Diğer değiştirilebilir faktörler [36]

2.1.1. Periodontal hastalıkların etiyolojisi

Oral biyofilm; diş minesi, kök yüzeyi ve dental implant yüzeyi gibi solid yüzeylere bağlı ve sakkarit matriks ile çevrili bakteri topluluklarıdır [37]. Ekzopolisakkaritler (EPS), bakteriyel biyofilm matriksinin ana bileşenleridir. Mikroorganizmalar tarafından salgılanırlar ve biyofilm yapısında ve mikrobiyal aktivitede önemli bir rol oynarlar. Biyofilmler tek bir mikroorganizma türünü barındırabileceği gibi birden fazla mikroorganizma türünü de barındırabilir [38].

Dental plak; diş yüzeyine sıkıca tutunmuş, mikroorganizmalar, lökositler, tükürük glikoproteinleri, epitel hücreleri ve besin artıklarının oluşturduğu spesifik oral biyofilm olarak bilinir. Dental plak, diş yüzeylerinin ve dişeti seviyesinin üzerinde olduğunda supragingival, dişetinin altında olduğunda ise subgingival olarak adlandırılır. Oral biyofilm oluşumunun ilk adımı, tükürük proteinleri ve glikoproteinlerinden oluşan ince, hücresiz, düz bir pelikül tabakasının temiz bir diş yüzeyine bağlanmasıdır. Bakterilerin peliküle yapışması, biyofilm oluşumunun ikinci aşamasıdır ve bu aşama geri dönüşümlüdür. Ardından *Actinomyces spp., Streptococcus spp., Haemophilus spp., Capnocytophaga spp., Veillonella spp.*, ve *Neisseria* gibi erken kolonize olan bakteriler daha sonra kolonize olacak *Fusobacterium nucleatum (F. nucleatum), Treponema spp, Tannerella forsythensis,*

Porpyyromonas gingivalis (P. gingivalis), Aggregatibacter actinomycetemcomitans bakteri türleri için tükürük glikoproteinleri yoluyla spesifik bağlanma bölgeleri sağlar ve biyofilm gelişimini destekler [39]. Periodontal hastalıklarla ilişkili dental plakta, baskın olarak anaerobik gram negatif bakterilerin yer aldığı yaklaşık 350'den fazla bakteri türü bulunmaktadır [40]. Periodontal hastalıkların major etkeninin mikrobiyal dental plak olduğu bildirilmiştir [41, 42]. Waerhaug (1976) tarafından periodontitise sahip bireylerin değerlendirildiği bir çalışmada, ataşman kaybının görüldüğü yerlerde her zaman subgingival plağın da yer aldığı belirlenmiş ve plağı çevreleyen dokuda yüksek enflamatuar cevap gözlenmiştir [43]. Periodontal hastalıklardaki lokal enflamasyonu mikrobiyal dental plağın başlattığı bilinmesine rağmen, bazı periodontal hastalık tiplerinde hastalık şiddeti ile plak miktarı arasında her zaman doğru bir orantı kurmak mümkün olmayabilir [43] .

Hastalık etkeni olan bakteri ve bakteri ürünlerine ek olarak, konak immün savunma sistemi de hastalığın gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir etkendir [44]. Mikroorganizmalar, konağa bağlı enzimler aracılığıyla doğal ve edinilmiş konak savunmasını aktive ederek periodontitisin etiyolojisinde ve patogenezinde rol oynarlar [45]. Savunma sistemi hücreleri bakteriler ve bakteri ürünleri ile karşılaştığında doku yıkıcı ve koruyucu hücreler de aynı anda harekete geçer [44]. Konak cevabı; periodonsiyumu lokal mikrobiyal saldırılardan korur, patojenik mikroorganizmaların doku içinde yayılmasını önler, ancak aynı zamanda periodontal ligament, alveolar kemik ve sementin tahrip olmasına neden olarak periodonsiyum hücrelerine ve bağ dokusuna zarar verebilir [45].

Periodontal hastalıkların teşhisi, periodontal dokuların sağlıklı olarak bilinen yapısını bozan çeşitli belirtilerin görülmesi ve tanınması ile yapılmaktadır [46]. Periodontal hastalıklar dişeti enfeksiyonu (gingivitis) ile başlar. Gingivitis genellikle dental plak birikimi ile başlayan, periodontal ataşman kaybının olmadığı bölgeye özgü enflamatuar bir durum olarak kabul edilir [47]. Gingivitiste konak cevabı ve dental plak arasındaki denge bozulmuştur [48]. Enflamasyon sadece dişeti dokusuyla sınırlı kalmıştır; dişetinde renk değişikliği, sondlamada kanama ve ödem görülebilir [48]. Gingivitis geri dönüşümlü bir hastalıktır ve tedavi edildiğinde sağlıklı duruma geçiş mümkündür. Fakat tedavi edilmezse dişetinde enflamasyonla birlikte, geri dönüşümsüz periodontal doku yıkımı ve alveolar kemik kaybının görüldüğü periodontitise ilerler [49]. Periodontitis ile karşılaştırıldığında plak kaynaklı gingivitisin en belirgin özelliği dental biyofilm uzaklaştırıldıktan sonra doku değişikliklerinin tamamen tersine dönebilir oluşudur. Gingivitis, periodontitisin öncüsü

kabul edildiği için klinik olarak büyük bir öneme sahiptir [50]. Sağlıklı periodonsiyumu olan bir birey, ataşman kaybı ve radyografik kemik kaybı olmaksızın ≥ %10 ve ≤ %30 sondalamada kanama (SK) indeksi skoruna sahip olduğunda gingivitis tanısı alır [50].

Periodontitis terimi, dişeti, periodontal ligament, alveol kemiği ve sement gibi periodonsiyumu oluşturan dört temel periodontal dokunun hastalığına atıfta bulunur. Periodontitis, insanlarda en sık görülen oral enfeksiyöz hastalıklarından biridir [51-53]. Dişleri destekleyen bağlantı epitelinin iltihaplanması, supragingival ve subgingival plak ve diş taşı, dişetlerinde kanama, periodontal dokularda ataşman kaybı, cep derinliği artışı, apse, diş mobilitesinde artış ve diş kaybı periodontitiste gözlenen klinik bulgular arasında yer olabilir [54, 55]. Diş kaybının en yaygın nedenidir ve tedavisi karmaşıktır [31, 56]. Histopatolojik incelemelerde birleşim epitelinin apikale göçü, cep epitelinde kollojen lif hasarı, birleşim epiteli ve cep epitelinde polimorfonükleer hücre infiltrasyonu ve yoğun enflamatuar hücre varlığı olduğu bildirilmiştir [3]. Periodontitis, diş kaybı ile sonuçlanabilen doku yıkımının yanı sıra çiğnemede olumsuz etkiler gibi çeşitli fonksiyonel bozuklara ve estetik problemlere de neden olmaktadır.

2.1.2. Periodontal hastalıkların epidemiyolojisi

Periodontal hastalıklar arasında en yaygın görüleni gingivitistir ve dünya nüfusunun % 80'nden fazlası bu hastalıktan etkilenmektedir [51]. Gingivitise kıyasla periodontitisin dünya çapında prevalansı, yetişkin bireylerde % 10-15 arasında seyrederken, zayıf oral hijyene sahip ülkelerde bu oran artmaktadır [52]. 1990-2010 yıllar arasındaki araştırmaları kapsayan bir çalışmada, şiddetli periodontitisin dünya çapında görülen en yaygın 6. hastalık olduğu ileri sürülmüştür [53]. 2003 yılında 20-80 yaş arasındaki İsveçli bireylere yönelik yapılan araştırmada, bireylerin % 44'ü sondlamada minimum kanama ile sağlıklı kabul edilirken, % 11'inde şiddetli periodontitis olduğu tespit edilmiştir [57]. Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırması'ndan elde edilen veriler, 30 yaşın üzerindeki Amerikalı yetişkinlerde periodontitis görülme oranının % 46 olduğunu göstermiştir [58]. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise 35-44 yaş arasındaki bireylerin % 43'nde, 65 yaş ve üstü bireylerin ise % 91'inde 3mm'den fazla ataşman kaybı olduğu bildirilmiştir [59]. Hem etkilenen diş sayısı hem de şiddeti açısından periodontal ataşmanın önemli bir kısmı periodontitis tarafından tahrip edildiğinde, hastalık, etkilenen bireylerin yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bir dizi belirti ve semptomla birlikte karmaşık hale gelir. Bunlara diş migrasyonu,

diş hipermobilitesi, diş kaybı ve nihayetinde artan çiğneme disfonksiyonu eklenir. Periodontitis ilerlediğinde çiğneme disfonksiyonu beslenmeyi ve genel sağlığı tehlikeye atar [60]. Bu veriler ışığında periodontal hastalıklar, dünya çapında genel bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir.

2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal hastalıkların tanınması ve tedavisi antik çağlara kadar uzanır. Eski Mısır ve Çin yazıtlarında bulunan tedavi açıklamalarıyla ilgili bilgiler, periodontal hastalıkların 5000 yıl öncesinden tanındığını düşündürmektedir [61]. Hastalık sınıflandırma sistemleri, klinisyenlerin etiyoloji, patogenez ve tedavi ile ilgili olarak hastalıkları tanımlamak için kullanılabilecekleri ortak bir yapı geliştirmelerine olanak sağlamak amacıyla ortaya çıkmıştır. Ayrıca bir hastalık teşhis edildikten ve sınıflandırıldıktan sonra, etiyolojisi ve kanıtlara dayalı tedaviler tercih edilmektedir. Bu sebeple sınıflandırma sistemleri aynı zamanda hastalığın doğru tedavisinin düzenlenebileceği genel bir çerçeve yaratmaktadır.

Periodontal sınıflandırmalar, yıkıcı periodontal hastalıkların değişen tablolarına uyum sağlamak için periyodik güncellemelerden geçer. Yapılan araştırmalar ve konuyla ilgili bilgiler genişledikçe periodontal hastalık sınıflandırmaları sıklıkla revizyona ve değişikliğe uğrayarak günümüze kadar çeşitli şekillerde gelmiştir (Çizelge 2.1). 1989 yılında yapılan sınıflandırılma (Çizelge 2.2), 1999 yılında önemli değişiklikler ile yenilenmiştir. Yakın zamana kadar kullanılan 1999 Amerikan Periodontoloji Akademisi Periodontal Hastalık Sınıflandırması [41] ise, Amerikan Periodontoloji Akademisi ve Avrupa Periodontoloji Federasyonu tarafından 2017 yılında yapılan çalışmalar sonucunda terkedilmiş ve yerini güncel, farklı bir sınıflandırmaya bırakmıştır [54]. Yeni sınıflandırmada göze en çarpan değişiklik sıklıkla kullandığımız kronik ve agresif periodontitis tanımlarının çıkarılması ile peri-implant hastalıklar ve durumların sınıflandırmaya eklenmesi olarak özetlenebilir. Ayrıca periodontitis klinik olarak evreleme ve derecelendirme ile daha detaylı olarak kategorize edilmiştir.

Çizelge 2.1. Periodontal hastalık sınıflandırılmalarının kronolojik listesi

Periodontal Hastalık Sınıflandırmaları:
1966 Periodontoloji Çalıştayı Sınıflandırması [62]
1986 Amerikan Periodontoloji Akademisi Sınıflandırması [63]
1989 Dünya Klinik Periodontoloji Çalıştayı Sınıflandırması [64]
1993 Avrupa Periodontoloji Çalıştayı Sınıflandırması [65]
1999 Amerikan Periodontoloji Akademisi Periodontal Hastalık Sınıflandırması [41]
2017 Avrupa Periodontoloji Federasyonu ve Amerikan Periodontoloji Akademisi Sınıflandırması [54]

Çizelge 2.2. 1989 Dünya klinik periodontoloji çalıştayı sınıflandırması [64]

GİNGİVİTİS
ERİŞKİN PERİODONTİTİS
ERKEN YAŞTA GÖRÜLEN PERİODONTİTİS
1. Prepubertal Periodontitis
2. Juvenil Periodontitis
3. Hızlı İlerleyen Periodontitis
SİSTEMİK HASTALIKLAR İLE İLİŞKİLİ PERİODONTİTİS
1. Down Sendromu, Diyabet, Papillon Le Fevre, AİDS, vb
NEKROZİTAN ÜLSERATİF PERİODONTİTİS
TEKRARLAYAN PERİODONTİTİS

2.2.1. 1999 AAP periodontal hastalık sınıflandırılması

Mevcut sınıflandırma sistemlerinde hastalık kategorileri arasında çakışmalar olması, bazı hastaların herhangi bir kategoriye uymaması ve sınıflandırma kriterlerinin yetersiz olması nedeniyle 1999 yılında AAP tarafından ‘Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması Uluslararası Çalıştayı’ ile gingival hastalıklar kategorisinin de eklendiği yeni bir sınıflandırma oluşturulmuştur. Bu 1999 tarihli sınıflandırmada periodontal hastalıklar 8 ana başlık altında toplanmıştır (Çizelge 2.3) [41].

Çizelge 2.3. 1999 AAP periodontal hastalık sınıflandırılması [41]

GİNGİVAL HASTALIKLAR (GİNGİVİTİS)
1. Dental Plak ile İlişkili Gingival Hastalıklar
a) Sadece Dental Plak ile İlişkili Gingival Hastalıklar • Lokal faktörlerin katıldığı • Lokal faktörlerin katılmadığı
b) Sistemik Faktörler Tarafından Modifiye Edilen Gingival Hastalıklar • Endokrin sistem ile ilişkili • Kan hastalıkları ile ilişkili
c) İlaç Kullanımının Modifiye Ettiği Gingival Hastalıklar • İlaca bağlı dişeti büyümeleri • İlaca bağlı dişeti hastalıkları
d) Beslenme Yetersizliğine Bağlı Gingival Hastalıklar • Askorbik asit eksikliğine bağlı gingival hastalıklar
2. Dental Plak ile İlişkili Olmayan Gingival Hastalıklar
a) Spesifik Bakteriyel Kaynaklı Gingival Hastalıklar
b) Viral Kaynaklı Gingival Hastalıklar
c) Fungal Kaynaklı Gingival Hastalıklar
d) Genetik Kaynaklı Gingival Lezyonlar
e) Sistemik Durumlarla İlişkili Gingival Hastalıklar
f) Travmatik Lezyonlar
g) Yabancı Cisim Reaksiyonları
KRONİK PERİODONTİTİS
1. Lokalize
2. Generalize
AGRESİF PERİODONTİTİS
1. Lokalize
2. Generalize
SİSTEMİK HASTALIKLARIN BELİRTİSİ OLARAK PERİODONTİTİS
NEKROZİTAN PERİODONTAL HASTALIKLAR
1. Nekrozitan Ülseratif Gingivitis (NUG)
2. Nekrozitan Ülseratif Periodontitis (NUP)
PERİODONSİYUM APSELERİ
1. Gingival Apse
2. Periodontal Apse
3. Perikoronitis
ENDODONTİK LEZYONLARLA İLİŞKİLİ PERİODONTİTİS
1. Endodontal-Periodontal Lezyonlar
2. Periodontal-Endodontik Lezyonlar
3. Kombine Lezyonlar
GELİŞİMSEL VEYA KAZANILMIŞ DEFORMİTELER ve DURUMLAR

1999 sınıflandırmasındaki *kronik periodontitis* terimi, 1989 sınıflandırmasında yer alan yetişkin periodontitis teriminin yerini almıştır. Yetişkinlerde sıklıkla görülen periodontitis türü olmasına karşın adolesanlarda ve nadiren çocuklarda da görülmesinden dolayı tanımın uygun olmadığı düşülerek, spesifik ve yaşa bağlı olmayan kronik terimi daha az sınırlandırıcı olması sebebiyle tercih edilmiştir [41]. Kronik periodontitis dişin destekleyici yapılarında

enflamasyon, ataşman kaybı ve kemik yıkımıyla karakterize, periodontitisin en sık karşılaşılan formu olarak karşımıza çıkar. Hastalığın seyri yavaştır; ancak çevresel ve sistemik risk faktörlerine bağlı olarak hızlı ilerleyebilir [41]. Kronik periodontitis, genellikle yetişkin bireylerde görülen hastalık tipleri için genel bir tanımdır ve hastaların % 85'inde yalnızca bir kez diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi veya hiç tedavi uygulanmamasından sonra bile 5-6 yıl boyunca ilerlemeden kalabildiği bildirilmiştir [66].

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

- *Lokalize kronik periodontitis:* Hastalıktan etkilenen diş sayısının mevcut dişlerin % 30'undan az olduğu durum olarak tanımlanır [67].
- *Generalize kronik periodontitis:* Hastalıktan etkilenen diş sayısının, mevcut diş sayısının % 30'u veya daha fazla olduğu durum olarak tanımlanır [67].

Periodontitiste ortaya çıkan yıkımın şiddeti ve ilerlemesi; çevresel, genetik ve edinilmiş risk faktörleri ile değişmektedir [68]. Hastalığın şiddeti, konak yanıtını değiştiren sistemik hastalıklar veya artan yaşla beraber değişiklik göstermektedir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte hastalığın seyri ve periodontal dokulardaki kayıp daha şiddetli bir hal almaktadır. Bu nedenle kronik periodontitis hafif, orta ve şiddetli olarak da tanımlanmaktadır [68]:

- *Hafif şiddetli periodontitis:* 1-2 mm'den daha fazla olmayan ataşman kaybı mevcuttur.
- *Orta şiddetli periodontitis:* 3-4 mm ataşman kaybı mevcuttur.
- *Şiddetli periodontitis:* 5 mm veya daha fazla ataşman kaybı mevcuttur.

1999 AAP Periodontal Hastalık Sınıflandırmasına göre kronik periodontitisin özellikleri sıralanmıştır [41];

- Sıklıkla yetişkinlerde görülmesine karşın, çocuklarda ve ergenlerde de ortaya çıkabilir.
- Yıkım miktarı yerel faktörlerin varlığıyla orantılıdır.
- Subgingival plak sıklıkla eşlik eder.
- Değişken bir mikrobiyal patern ile direk ilişkilidir.
- İlerleme hızı yaşla beraber ortalama bir seyirde olmasına karşın bazen hızlı ilerleyebilir.
- Lokal predispozan faktörler ile ilişkili olabilir.

- Sistemik hastalıklar ile modifiye edilebilir.
- Sistemik hastalıklar dışında sigara ve stres gibi faktörler ile de ilişkilendirilebilir.

Agresif periodontitis, 1989 ve 1993 sınıflandırmalarında genç hastaları etkileyen bir dizi hastalığı kapsayan "erken başlangıçlı periodontitis" kategorisinin yerini almıştır. Baer, agresif periodontitisi sistemik olarak sağlıklı bir adölesanda meydana gelen, daimi dişlerde birden fazla dişte hızlı ataşman kaybı ve kemik yıkımı ile karakterize edilen bir periodonsiyum hastalığı olarak tanımlamıştır [69].

Agresif periodontitis etkilediği diş sayısına göre lokalize ve generalize olmak üzere ikiye ayrılmıştır.

- *Lokalize agresif periodontitis:* Birinci büyük azı dişi dahil olmak üzere en az 2 daimî dişte ataşman kaybı görülür. Pubertal başlangıçlıdır. Enfekte edici ajanlara karşı sağlam bir serum antikor yanıtının oluşmasıyla karakterizedir [41, 70].
- *Generalize agresif periodontitis:* Birinci büyük azı dişi ve keser dişler harici en az 3 dişte ataşman kaybı görülür. Genellikle 30 yaşın altındaki bireyleri -ancak hastalar daha yaşlı olabilir- etkiler. Patojenlere karşı zayıf bir serum antikor yanıtının oluşmasıyla karakterizedir [41, 70].

1999 AAP Periodontal Hastalık Sınıflandırmasına göre agresif periodontitisin özellikleri sıralanmıştır [69, 70];

- Genellikle 30 yaşın altında bireyleri etkilediği bilinir, ancak daha yaşlı hastaların da hızlı ataşman kaybı dönemleri yaşayabileceği kabul edilmektedir.
- Hastalık sadece daimî dişleri etkiler. Süt dişleri, yıkıcı periodontal hastalık nedeniyle etkilenmez.
- Periodontal doku yıkımının şiddeti lokal etiyolojik faktörler ile paralel olmayabilir.
- Genetik geçiş söz konusudur.

2.2.2. 2017 EFP/AAP periodontal ve peri-implant hastalıklar ve durumların sınıflandırılması

1999 AAP Periodontal Hastalık Sınıflandırması periodontal klinik uygulamalar ve bilimsel araştırmalarda yaygın olarak kullanılan uygulanabilir bir çerçeve sağlasa da agresif ve kronik periodontitisin teşhisindeki belirsizlikler, periodontitis sınıflamasının patobiyolojik temele dayalı ayrımın bulunmaması, peri-implant hastalıkların sınıflamasının yapılmamış olması, teşhis ve tedavilerde yaşanan zorluklar nedeni ile yeni bir sınıflama ihtiyacı doğmuştur [71]. Bahsedilen eksikliklere ve yeni doğan ihtiyaçlara cevap verecek şekilde düzenlenmiş 2017 periodontal ve peri-implant hastalıklar ve durumların sınıflandırılmasına göre; periodontal hastalıklar ve durumlar 3 başlık altında, peri-implant hastalıklar ve durumlar ise 4 başlık altında incelenmiştir (Çizelge 2.4) [54].

Çizelge 2.4. 2017 EFP/AAP periodontal ve peri-implant hastalıklar ve durumların sınıflandırılması [54]

PERİODONTAL HASTALIKLAR VE DURUMLAR
1. Periodontal Sağlık, Gingival Hastalıklar ve Durumlar
a) Periodontal ve Gingival Sağlık
b) Gingivitis; Biyofilm Tarafından İndüklenen
c) Biyofilm Tarafından İndüklenmeyen Gingival Hastalıklar
2. Periodontitis
a) Nekrozitan Periodontal Hastalıklar
b) Periodontitis
c) Sistemik Bir Hastalığın Bulgusu Olarak Periodontitis
3. Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar
a) Periodontal Destek Dokuları Etkileyen Sistemik Hastalıklar ve Durumlar
b) Periodontal Apseler ve Endo-Perio Lezyonlar
c) Mukogingival Deformiteler ve Durumlar
d) Travmatik Oklüzal Kuvvetler
e) Diş ve Protez ile İlişkili Faktörler
PERİ-İMPLANT HASTALIKLAR VE DURUMLAR
1. Peri-İmplant Sağlık
2. Peri-İmplant Mukozitis
3. Periimplantitis
4. Peri-İmplant Sert ve Yumuşak Doku Yetersizlikleri

Periodontal sağlık, gingival hastalıklar ve durumlar

Periodontal sağlık, gingival hastalıklar ve durumlar 3 ana başlık altında incelenmiştir (Çizelge 2.5) [54].

Çizelge 2.5. 2017 EFP/AAP periodontal sağlık, gingival hastalıklar ve durumların sınıflandırılması [54]

PERİODONTAL SAĞLIK, GİNGİVAL HASTALIKLAR VE DURUMLAR
1. Periodontal ve Gingival Sağlık
a) Bütünlüğü bozulmamış periodonsiyumda klinik olarak gözlenebilen dişeti sağlığı
b) Periodontitis olmayan hastalar (Örn.: dişeti çekilmesi, kuron boyu uzatma yapılan dişler)
2. Gingivitis; Biyofilm Tarafından İndüklenen
a) Sadece dental biyofilm ile ilişkili gingivitis
b) Sistemik ya da lokal risk faktörlerinin etkilediği gingivitis *Sistemik Risk Faktörleri: Sigara, hiperglisemi, beslenme ile ilgili faktörler, farmakolojik ajanlar, cinsiyet hormonları (Puberta, menstrual döngü, hamilelik, oral kontraseptifler), hematolojik durumlar* *Lokal Risk Faktörleri: Dental plak retansiyonuna neden olan faktörler, ağız kuruluğu*
c) İlaca bağlı dişeti büyümeleri
3. Biyofilm Tarafından İndüklenmeyen Gingival Hastalıklar
a) Genetik/ gelişimsel bozukluklar
b) Spesifik enfeksiyonlar
c) Enflamatuar ve immün durumlar
d) Reaktif süreçler
e) Neoplazmlar
f) Endokrin, beslenme ile ilgili ve metabolik hastalıklar
g) Travmatik lezyonlar
h) Dişeti pigmentasyonu

Periodontal ve gingival sağlık

Periodontal sağlık, periodonsiyumu içeren yapıların herhangi birinde hastalık olmamasını yani gingivitis, periodontitis olmamasını ya da bu hastalıkların tedavisinin başarılı olarak yapıldığı durumları ifade eder [54]. Bütünlüğü bozulmamış periodonsiyumda klinik olarak gözlenebilen dişeti sağlığı, periodontal yapılarda ataşman kaybının olmaması, ≤ 3mm sondlama cep derinliği olması, sondlamada kanama, dişetinde şişlik, kızarıklık ve ödem olmaması ile tanımlanmıştır [72]. Periodonsiyumun normal ataşman ve kemik seviyesine mi yoksa azalmış desteğe mi sahip olduğunu anlamak ve modifiye edici faktörleri ve göreceli

tedavi sonuçlarını kontrol etme yeteneğine bağlı olarak *4 seviyeli periodontal sağlık* durumu olduğu öne sürülmüştür [72] :

1. Bütünlüğü bozulmamış periodontal sağlık: Ataşman ve kemik kaybının olmadığı normal destekli periodonsiyum. Klinik enflamasyon ve fizyolojik immün durumlar tamamen yoktur.
2. Klinik periodontal sağlık: Normal desteğe sahip bir periodonsiyumda klinik enflamasyonun olmaması veya minimum düzeyde olması.
3. Azalmış periodonsiyumda periodontal hastalık stabilitesi
4. Azalmış periodonsiyumda periodontal hastalık remisyonu/kontrolü.

Gingivitis, gingival ataşmanda herhangi bir kayıp olmaksızın dişeti dokusu ile sınırlı, spesifik olmayan bir plak birikimine karşı spesifik olmayan bir enflamatuar reaksiyon olarak tanımlanır [72].

Periodontitis, plakla ilişkili başlıca periodontal hastalıkları kapsar ve tedavi sonuçlarında ya periodontal hastalık stabilitesi ya da periodontal hastalık remisyonu/kontrolü olması beklenir.

Periodontal hastalık stabilitesi; periodontitisin başarılı bir şekilde tedavi edildiği ve periodonsiyumun azalmasına rağmen hastalığın klinik belirtilerinin yaygınlık veya şiddet açısından kötüleşmediği bir durum olarak tanımlanır.

Periodontal hastalık remisyonu/kontrolü; hastalığın seyrinde semptomların daha az şiddetli hale geldiği ancak tam olarak çözülemeyebileceği bir dönem olarak tanımlanır [72]. Periodontal koşullar ve periodontal sağlık açısından beklenen sonuçlar, bozulmamış ve azalmış periodonsiyum bağlamında detaylandırılmıştır (Çizelge 2.6) [72].

Çizelge 2.6. Plak ile ilişkili periodontal hastalıklar için periodontal sağlığın sonuçları [72]

	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	Kontrollü	Kontrollü	Mevcut olabilir	Kontrollü	Tamamen kontrollü değil
Predispozan faktörler	Kontrollü	Kontrollü	Mevcut olabilir	Kontrollü	Tamamen kontrollü değil

Periodontitis

2017 EFP/AAP sınıflandırmasına göre; periodontitis teşhisinin konulabilmesi için,

1. Komşu olmayan en az 2 dişte interdental alanda ataşman kaybının ≥ 2mm olması veya 2. En az 2 dişte dişlerin bukkal ya da vestibül yüzeylerinde cep derinliği ve klinik ataşman kaybının ≥ 3mm olması ve cep derinliğinin >3mm olması gerekmektedir [2].

1999 AAP sınıflandırmasında periodontitis tanımı kronik ve agresif olarak sınıflandırılırken, 2017 EFP/AAP sınıflandırmasında 3 ana başlık altında toplanmış (Çizelge 2.7) [54], evre (Çizelge 2.8), kapsam ve yayılım, derece (Çizelge 2.9) sistemleri altında incelenmiştir.

Çizelge 2.7. 2017 EFP/AAP periodontitisin sınıflandırılması [54]

PERİODONTİTİS
a) Nekrozitan Periodontal Hastalıklar
b) Periodontitis
c) Sistemik Bir Hastalığın Bulgusu Olarak Periodontitis

Periodontitis teşhisinde ataşman kaybının sebebini iyi belirlemek önemlidir. Dişlerin servikaline uzanan derin çürükler, travmatik nedenli dişeti çekilmeleri, 3. molar dişin malpozisyonu ve çekimi ile ilişkili 2. molar dişin distalinden görülen klinik ataşman kaybı,

vertikal kök kırıkları, marjinal periodonsiyumdan drene olan endodontik lezyon gibi ek faktörlerin periodontitis teşhisindeki klinik ataşman kaybından ayırt edilmesine dikkat edilmelidir [2].

2017 EFP/AAP sınıflandırmasında periodontitis evrelere ve derecelere ayrılarak tanımlanmış, hastalığın kapsam ve yayılımı sınıflandırılmıştır [2]. Evrelere ayırmanın hastalığın şiddetini ve kapsamını sınıflandırırken, derecelendirmenin gelecekteki riski tahmin etmeye yönelik kolaylık sağlayabileceği ileri sürülmüştür [2]. Periodontitis 4 evrede (Çizelge 2.8) ve 3 derecede (Çizelge 2.9) kategorize edilmiştir. Periodontitis vakasının evrelenebilmesi için radyografi, periodontal durum tespiti ve periodontal diş kaybı öyküsünün olup olmadığı bilinmelidir.

Periodontitis evreleri

Evre 1 Periodontitis: Gingivitis ve periodontitis arasında sınır olarak kabul edilir ve ataşman kaybının erken aşamalarını temsil etmektedir. Evre 1 periodontitisli hastalar, dişeti iltihabının ve biyofilm disbiyozunun kalıcılığına yanıt olarak periodontitis geliştirmiştir. Bu grup hastalar, erken yaşlarda bir miktar klinik ataşman kaybı gösterebilir ve bu hastaların hastalık gelişimine karşı duyarlılığının artmış olduğu söylenebilir [2].

Evre 2 Periodontitis: Yerleşik periodontitisi temsil etmektedir. Bu aşamada yapılacak klinik tedavilerin ve oral hijyen alışkanlıklarının iyileştirilmesinin hastalığın ilerlemesini durdurması beklenmektedir [2].

Evre 3 Periodontitis: İleri derecede ataşman kaybı mevcuttur ve tedaviler uygulanmadığında diş kaybı ile sonuçlanabilir. Kökün ortasına kadar uzanan derin periodontal cepler mevcuttur. Kemik içi defektlerin varlığı, furkasyon tutulumu, periodontal diş kaybı öyküsü tedaviyi karmaşıklaştırır. Diş kayıplarına rağmen çiğneme fonksiyonu korunur [2].

Evre 4 Periodontitis: Periodontal destek yapılarda önemli kayıplar mevcuttur, diş kayıpları gözlenir ve bunun sonucunda çiğneme fonksiyonunda da kayıp meydana gelir. Kökün apikaline uzanan derin periodontal ceplerin varlığı ve çoklu diş kaybı öyküsü ile karakterize edilir, sekonder oklüzal travma ve diş kaybının sekelleri nedeniyle diş hipermobilitesi

sıklıkla karmaşık hale gelir; oklüzal kapanışta bozulma ve dişlerde migrasyon görülür. Tedavisi aynı zamanda çiğneme fonksiyonunun da restorasyonunu gerektirir [2].

Çizelge 2.8. Periodontitis evreleri [2]

Periodontitis Evreleri		**Evre 1**	**Evre 2**	**Evre 3**	**Evre 4**
Şiddet	En derin bölgedeki interdental ataşman kaybı	1-2 mm	3-4 mm	≥ 5 mm	
	Radyografik kemik kaybı	Koronal üçlü <%15	Koronal üçlü %15-%33	Kökün ortasına veya apikal üçlüsüne uzanan	
	Diş kaybı	Periodontal hastalığa bağlı diş kaybı yok		Periodontal hastalığa bağlı kaybedilen diş sayısı ≤ 4	Periodontal hastalığa bağlı kaybedilen diş sayısı ≥ 5
Kompleks Oluşu	Lokal Faktörler	Maksimum CD ≤ 4 mm Genelde horizontal kemik kaybı bulunur	Maksimum CD ≤ 5 mm Genelde horizontal kemik kaybı bulunur	Evre 2'ye ek olarak • CD ≥ 6mm • Vertikal kemik kaybı ≥ 3mm • Sınıf II veya III furkasyon tutulumu • Orta derecede kret defekti	Evre 3'e ek olarak • Çiğneme bozuklukları • Sekonder oklüzal travma (mobilite derecesi ≥ 2) • Şiddetli kret defekti • Isırma kollapsı, migrasyon/kayma, açılma/aralanma • 20'den az diş sayısı (10 karşılıklı çift)
Bölge ve Yayılımı	Açıklayıcı faktör olarak evre tanımına eklenir	Lokalize (<%30) Generalize (≥%30) Molar-keser dağılımı			

Periodontitis dereceleri

Hastanın daha önceki periodontal kayıtları mevcut olduğunda önceki 5 yıldaki periodontitis ilerleme hızı tahmin edilerek derecelendirme yapılır (Çizelge 2.9) [73].

- *Derece A Periodontitis:* 5 yıl içerisinde radyografik kemik kaybında veya klinik ataşman kaybında herhangi bir ilerleme yoktur. Yavaş ilerleme oranına sahiptir.
- *Derece B Periodontitis:* Radyografik kemik kaybındaki veya klinik ataşman kaybındaki ilerleme miktarı < 2 mm'dir. Orta hızda ilerleme oranına sahiptir. Hastalar günde < 10 adet sigara kullanır ve HbA1c değerleri < %7'dir.

- *Derece C Periodontitis:* Radyografik kemik kaybındaki veya klinik ataşman kaybındaki ilerleme miktarı ≥ 2 mm'dir. Hızlı ilerleme oranına sahiptir. Hastalar günde ≥ 10 adet sigara kullanır ve HbA1c değerleri ≥ %7'dir.

Hastanın daha önceki periodontal kayıtları mevcut olmadığında ise değerlendirmede tüm ağız radyografilerinde kemik yıkımı/yaş oranı (%) hesaplanır. Bu değerlendirmede prognozu en kötü diş kullanılır [73].

- *Derece A Periodontitis:* Kemik yıkımı/yaş oranı < 0,25
- *Derece B Periodontitis:* Kemik yıkımı/yaş oranı 0,25-1,0
- *Derece C Periodontitis:* Kemik yıkımı/yaş oranı > 1

Derece A ve derece B periodontitis risk faktörlerinin varlığında (sigara ve diyabet) daha yüksek bir dereceye yükselebilir. Hasta günde 10 ve üzeri sigara içiyorsa derece C'ye, 10'dan az sigara içiyorsa derece B'ye yükseltilebilir. Sigara kullanmıyor ise derecesi değiştirilmez [73].

Periodontitis kapsam ve yayılımı

Hastalığın görüldüğü bölgelere göre yaygınlığı incelenmiştir. Periodontitis kapsam ve yayılımına göre incelendiğinde;

- *Lokalize Periodontitis:* Dişlerin < % 30'unu kapsar.
- *Generalize Periodontitis:* Dişlerin ≥ % 30'unu kapsar.
- *Molar-Keser yayılımlı periodontitis.*

Çizelge 2.9. Periodontitis dereceleri [2]

Periodontitis derecesi			**Derece A: Yavaş ilerleyen**	**Derece B: Orta derecede ilerleyen**	**Derece C: Hızlı ilerleyen**
Primer kriterler	İlerlemenin direkt kanıtı	Longitidunal veri (Radyolojik kemik kaybı veya ataşman kaybı)	5 yıl içerisinde kayıp yok	5 yıl içinde < 2 mm	5 yıl içinde ≥ 2mm
	İlerlemenin indirekt kanıtı	% Kemik kaybı / yaş	< 0,25	0,25-1	> 1
		Fenotip	Düşük biyofilm birikimi ile düşük düzeyde periodontal yıkım	Biyofilm miktarı ile orantılı periodontal yıkım	Biyofilm miktarından daha fazla periodontal yıkım; hastalığın hızlı ilerlemesini ve/veya erken başlangıcını düşündüren spesifik durumlar (Molar-keser paterni, standart tedaviye beklenen yanıtın yetersiz oluşu)
Dereceyi modifiye eden etmenler	Risk faktörleri	Sigara	-	< 10 sigara/gün	≥ 10 sigara/gün
		Diyabet	-	HbA1c < 7	HbA1 ≥ 7
Periodontitisin sistemik etkisi	Enflamatuar yük	High sensitivity CRP (hsCRP)	< 1 mg/L	1-3 mg/L	> 3 mg/L
Biyolojik belirteçler	Klinik ataşman kaybı / kemik kaybı belirteçleri	Tükürük, DOS, serum	?	?	?

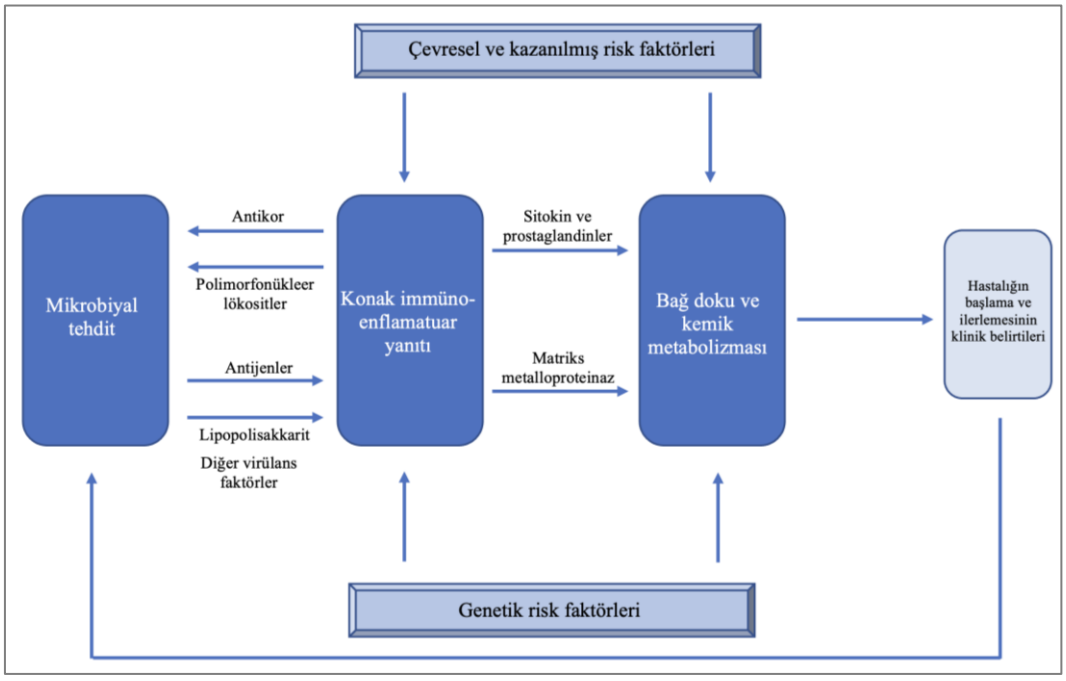
2.3. Periodontal Hastalıkların Patogenezi

Periodontal hastalıkların ana etkeni olan mikrobiyal dental plağın, hastalığa sahip bireylerin hepsinde görünmesine karşın, bireylerin hastalık şiddetlerinin farklı olduğu gözlenmektedir. Bu farklılıkları doğru yorumlayabilmek için periodontal hastalıkların patogenezinin daha iyi anlaşılması önemlidir.

Geçmişten günümüze periodontal hastalığa sebep olan bakterilerin periodontal cep oluşumuna, bağlantı epitelinin cep epiteline dönüşümüne, alveolar kemiğin, periodontal ligament ve bağ dokusunun yıkımına nasıl neden olduğu hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir. Bakteriler ve bakteri ürünleri doğrudan veya konak savunma hücrelerini aktive ederek dolaylı olarak doku yıkımına sebep olurlar. Konak savunma sistemi hücreleri hem

yapım hem de yıkımdan sorumludur ve bu sistemin aktivasyonu her zaman bir dereceye kadar yıkım ile sonuçlanır [74].

Periodontal hastalıkların patogenezinde (Şekil 2.2) altta yatan olaylar zinciri, hastalığın tüm formları tarafından paylaşılmaktadır. Hastalığın şiddetinin bireyler arasında değişkenlik göstermesinde dental plağa eşlik eden lokal, sistemik ve çevresel hazırlayıcı faktörler ve konak immün yanıtı rol almaktadır [74]. Antijenler, çeşitli virülans faktörleri ve bakteriler mikrobiyal tehdidi oluşturur; bu tehdide karşılık konak ani bir enflamatuar ve immün yanıtla cevap verir. Konak yanıtı sitokinler, eikozanoidler, kininler, tamamlayıcı aktivasyon ürünleri ve matris metalloproteinazlar (MMP) gibi enflamatuar aracıların üretimi ile sonuçlanır [74]. Bu olayların tümü hem genetik hem de çevresel veya edinilmiş faktörlerden etkilenir. Periodontal hastalıklarda gözlenen klinik tablo bu olayların toplamının bir sonucudur [74].



Şekil 2.2. Periodontal hastalık patogenezi [74]

Periodontal hastalıkların patogenezi ve gingival dokularda görülen histolojik değişiklik ilk olarak 1976'da Page ve Schroeder tarafından rasyonel bir temele oturtulmuş ve 4 ana başlık altında sınıflandırılmıştır [75].

Başlangıç Lezyonu: Sağlıklı periodontal dokularda plak birikimi sonrası 2-4 gün içerisinde, dişeti oluğu bölgesinde kemotaktik ve antijenik uyaranlara karşı oluşan bir cevaptır. Bu cevap eksüdatif vaskülit ile karakterizedir. Plak oluşumunu takiben ilk gözlenen bakteri türü *Streptococ*lardır. Subgingival plak birikimini takiben başta lipopolisakkaritler (LPS) olmak üzere bakteriyel komponentler bağ dokuya ulaşarak kollojenaz, hyalüronidaz, proteaz gibi maddeleri sentezler. Mikrobiyal ürünler aracılığıyla salınan vazoaktif maddeler vasküler ağın genişlemesine ve vasküler geçirgenliğin artmasına neden olur. Bağ dokusunun en koronal kısmının etkilendiği bu aşama subklinik olup, değişiklikler sadece histolojik düzeyde gözlemlenmektedir [75].

Erken Lezyon: Plak birikiminin başlamasından 4-7 gün sonra görülen bu evrede sondlamada kanama gibi klinik bulgular ilk kez gözlemlenir. Bu lezyonda vasküler değişiklikler daha belirgin bir hal alır. Zaman içerisinde rete-peglere doğru vasküler formasyonun artmasından ve vasküler proliferasyondan dolayı klinik olarak hemoraji gözlenir. Enflamatuar mediyatörlerin yoğun olduğu bir eksüda haline gelen DOS miktarı vasküler geçirgenliğin artmasına bağlı olarak artış göstermiştir [75].

Yerleşmiş Lezyon: 14-21 günlük plak birikimini takiben o zamana kadar görülen histolojik semptomlar dişetindeki renk, kontur değişiklikleriyle birlikte klinik olarak da gözlenebilen gingivitis semptomlarına dönüşmüştür. Bu evrede MMP'ler gibi kollojen yıkıcı mediyatörlerin artışı bağ dokusunda önemli miktarda yıkıma neden olmaktadır. Plazma hücrelerinin baskın olduğu bu evrede vasküler ağın etrafında çok sayıda enflamatuar hücre gözlenir. Sulkus epiteli cep epiteline dönüştür, periodontal ligament ve alveol kemiğinde yıkım yoktur. Doğru periodontal tedaviler ile hastalık uzun yıllar boyunca ilerlemeden bu safhada tutulabilir [75].

İlerlemiş Lezyon: Etkenin ortadan kaldırılmaması sonucu hastalık geri dönüşümsüz olarak ilerlemiş, yerleşmiş lezyon bulgularına ek olarak bağlantı epitelinin apikale göçü, alveol kemiğinde ve periodontal ligament liflerinde yıkım ve bunlara bağlı olarak dişte mobilite artışı gözlenmiştir. Şiddetli enflamasyona bağlı olarak konaktan salınan enzimler ve mediyatörler, bakterilerin bulunmadığı bölgelerde de yıkıma neden olmaktadır. Periodontal ligamentin perivasküler alanlarındaki kayıplar, enflamasyonun alveol kemiğe geçiş sürecini hızlandırmaktadır [75].

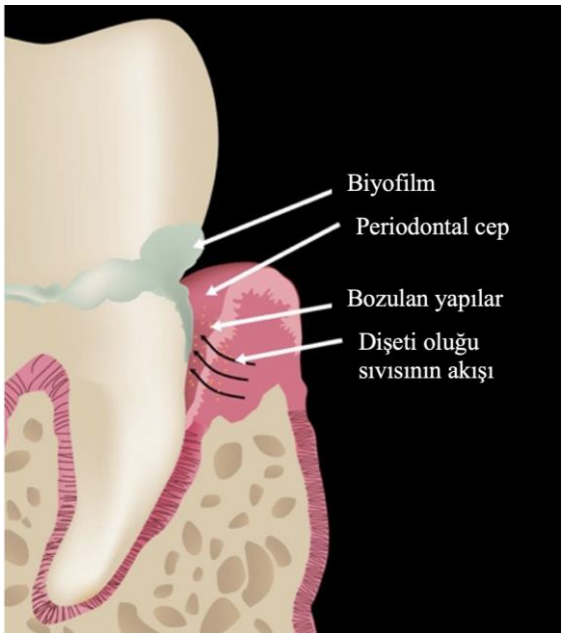
2.4. Dişeti Oluğu Sıvısı

DOS, dentogingival boşlukta epitelin altında yer alan kan damarlarının gingival pleksusundan kaynaklanan fizyolojik bir sıvı ve enflamatuar bir eksüdadır. Dişeti boşluğuna ulaşmak için dış bazal membran ve bağlantı epiteli boyunca ilerler. DOS, dental biyofilmde bulunan oral mikroorganizmalara yanıt olarak lokal olarak üretilen serum ve doku yıkım ürünleri, enflamatuar mediyatörler ve antikorlar gibi bileşenlerden oluşur [20].

Tıp alanındaki çoğu çalışma, klinik olarak hasar meydana gelmeden önce hastalık sürecinin varlığını ortaya koyabilecek biyolojik teşhis belirteçlerine ihtiyaç duymaktadır. Köpeklere sistemik olarak verilen fluorescein'in kağıt şeritler ile DOS'ta toplandığının tespit edilmesinin ardından diş hekimliğinde bu yöndeki çalışmalar hız kazanmıştır [76]. DOS'un önemi uzun yıllardır bilinmektedir. Fakat bu sıvının kökeni ve işlevi hakkındaki ilk araştırmalar, genellikle bu sıvının fizyolojik mi olduğu yoksa patolojik bir sürecin sonucu mu olduğu konusunda tartışmalara sebep olmuştur.

Alfano, 1974 yılında DOS'un kökeni ile ilgili bir teori tanımlamıştır [77]. Teori, DOS'un sabit bir ozmotik gradyan oluşumu ve klasik enflamasyonun başlaması gibi iki farklı mekanizmadan kaynaklandığı önermesine dayanmaktadır. Ozmotik gradyan, hücrelerin içindeki çözünmüş maddelerin su alma isteği olarak tanımlanır ve subgingival dental plakta bulunan bakterilerin makromoleküler yan ürünleri tarafından oluşturulur. Bu makromoleküller, dişeti oluğu epitelinden daha fazla penetrasyonu kısıtlayan bir yapı olan bazal membrana yayılır. Sonuç olarak, bu makromoleküller bazal membranda birikerek çözünen konsantrasyonunda lokal bir artışa ve bir ozmotik gradyan oluşumuna neden olur. Bu gradyan ile bazal membran boyunca ilerleyen moleküller, hücreler arası hidrostatik basıncı artıracak ve dişeti sıvısının eksüdasyonuna neden olacaktır. Bu mekanizma ile üretilen sıvı, klinik ve histolojik olarak sağlıklı olan dişeti dokularından kaynaklanabilir. Bakteri plağı ortadan kaldırılmazsa, makromoleküler yan ürünleri sonunda bazal membrana nüfuz edecektir. Bu moleküller enzimatik, toksik ve antijenik özelliklerine bağlı olarak klasik bir enflamatuar eksüdasyon başlatabilir. Bu nedenle, DOS, farklı zamanlarda veya ağzın çeşitli bölgelerinde, başlangıçta ozmotik olarak modüle edilmiş bir eksüdadan ikincil bir enflamatuar eksüdaya ilerleyebilir ve bunun sonucunda bileşiminde değişiklikler meydana gelebilir. [77] DOS, subgingival biyofilmin yeniden düzenlenmesine katkıda bulunur ve ayrıca hem konakçı hem de bakteri kaynaklı bakteriyel antijenleri ve enzimleri

barındırırken, enflamatuar mediyatörleri ve enflamatuar hücreleri periodontal cebe taşır. Barros ve ark. (2016), biyofilm varlığında epitel hücreleri boyunca DOS'un akışını şematize etmişlerdir (Şekil 2.3) [78].



Şekil 2.3. Dişeti oluğu sıvısı akışı [78]

Bakteri plağına konak yanıtı olarak ilk aşamada subepitelyal kan damarlarının vasküler geçirgenliğinde bir artış gözlemlenir, bu da dişetinde ödeme yol açar ve sulkusta DOS akışının artmasıyla sonuçlanır [75]. DOS'un sağlıklı bir sulkustan az miktarda da olsa izole edilebildiği de çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [76, 79, 80]. DOS içeriğinin doku metabolizması, enflamatuar hücre değişiklikleri ve bağ dokusu yeniden şekillenmesindeki subklinik değişiklikleri saptamak için potansiyel olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür [78]. Periodontal hastalığa bağlı gelişen periodontal doku yıkımında, DOS'ta doku yıkım ürünleri görülür. DOS, hastalık aktivitesi veya potansiyelinin göstergeleri olduğu bilinen konakçı ve bakteriyel hücre metabolizması bileşenleri için toplama kaynağı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır.

DOS, toplama kolaylığı ve oral bölgede aynı anda birden fazla bölgeden numune alınmasına izin vermesi nedeniyle yaygın olarak tercih edilen oral tanı materyalidir [81]. DOS örneklerinin elde edilmesinin hassas teknikleri gerektirmesi bu yöntemin en önemli limitasyonu olarak değerlendirilebilir. Tek bir bölgeden toplanabilen son derece küçük hacimli örnek materyalinin doğru bir şekilde analizinin sağlanabilmesi için doğru DOS

toplama metodunun tercihi ve tecrübeli bir klinisyenin varlığına ihtiyaç vardır. DOS hacmi; akış hızı [82], dişeti travması [83] ve tekrar örnekleme [84] gibi birçok faktörden etkilenir. DOS hacminin enfeksiyon varlığı, sert diş fırçalama gibi travmaya neden olan sebepler, oral kontraseptif gibi ilaç kullanımı durumlarında arttığı; sağlıklı dişeti dokusunda ise DOS miktarının daha az olduğu bildirilmiştir [85].

2.4.1. Dişeti oluğu sıvısı içeriği

DOS içerisinde periodontal hastalık sürecinde periodonsiyumda meydana gelen enflamatuar yanıtın ürünleri bulunabilir. Bu bileşenlerin tespiti, periodontal hastalık durumunun veya periodontal tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde faydalı olmaktadır [86]. DOS içeriğindeki bileşenler;

- Konak kaynaklı enzimler ve inhibitörleri
- Doku yıkım ürünleri
- Enflamatuar mediyatörler ve konak yanıtı değiştiriciler olmak üzere 3 ana başlık altında toplanmıştır (Çizelge 2.10) [87].

Sitokinler, hücresel veya sistemik olarak başka bir hücrenin davranış veya özelliklerini değiştiren, bir hücre tarafından üretilen, ana işlevi hücre sinyalizasyonu ve iletişimi olan küçük çözünür proteinlerdir [88]. Belirli hücreler üzerindeki belirli reseptörlere bağlanarak bazı hücre içi değişiklikleri başlatabilir ve çeşitli genetik ve kimyasal düzenlemelere neden olabilirler [89]. Homotipik ve heterotipik tipler arasında karmaşık bir iletişim ağının sürdürülmesinden sorumludurlar. Bu nedenle sitokinler; çoğalma, gelişme, farklılaşma, homeostaz, rejenerasyon, onarım ve iltihaplanma dahil olmak üzere sayısız biyolojik aktivitede önemli bir rol oynar [88]. Birçok sitokin orijinal olarak hücresel kökenlerine veya işlevlerine göre sınıflandırılmıştır. Ancak, sitokinlerin genellikle çok işlevli olduğu ve birçok hücre tipi tarafından üretildiği ve biyolojik etkinliklerinin açıkça örtüştüğü bilinmektedir [88]. Sitokinlerin hedef hücreler üzerinde etki ettiği mekanizmalar otokrin, parakrin ve endokrin olarak sınıflandırılmıştır.

- *Otokrin etki:* Salınan sitokin salındığı hücreye etki eder.
- *Parakrin etki:* Salınan sitokin yakın hücreye etki eder.
- *Endokrin etki:* Salınan sitokin kan dolaşımı yolu ile uzak hücreye etki eder [90].

Sitokinlerin kalitatif yapısı ve sürekli salınımı, genellikle T yardımcı hücreler olarak adlandırılan CD4 T lenfositlerin alt kümeleri tarafından düzenlenir. T yardımcı hücrelerinin farklı alt kümeleri, konakçı bağışıklık yanıtında farklı işlevlere sahip farklı sitokin profillerinin salınmasıyla karakterize edilir; ancak sitokinlerin salınmasının her zaman yalnızca bir T yardımcı hücre alt kümesi ile ilişkili olması gerekli değildir. Bu alt kümeler, bağışıklık tepkisini düzenleyen ve daha fazla beyaz kan hücresinin salınımını ve çoğalmasını işaret eden moleküller olan interlökinler (IL) gibi farklı sitokinler üretir [91]. Sitokinlerin sınıflandırılması kesin sınırlar ile belirlenemese de fonksiyonel sınıflamasına göre [92]:

Pro-enflamatuar sitokinler: Ağırlıklı olarak aktive makrofajlar tarafından üretilir ve enflamatuar reaksiyonların yukarı yönde regülasyonunda yer alırlar. TNF-α, İL-1, İL-6, İL-8, İL-12, İL-17, interferon alfa (İFN-α) ve interferon beta (İFN-β) bu grupta yer alır [93].

* İFN-α, İL-6 ve dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF-β) çeşitli koşullar altında anti-enflamatuar veya pro-enflamatuar sitokinler olarak kategorize edilir.

Anti-enflamatuar sitokinler: Anti-enflamatuar sitokinler, pro-enflamatuar sitokin yanıtını kontrol eden bir dizi immün düzenleyici moleküllerdir. İL-1ra, İL-4, İL-10, İL-11 ve İL-13 bu grupta yer alır [93]. Özellikle İL-10 aktive makrofajlar tarafından TNF-α, İL-6 ve İL-1 gibi enflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu baskılayan güçlü anti-enflamatuar özelliklere sahiptir.

Kemokinler: Sitokinlerin kemotaksisi indükleyen alt grubu olarak bilinirler. Esas olarak lökositlerin aktivasyonu ve göçünde salgılanan ve işlev gören düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir. Fibroblastlar, endotelyal hücreler, makrofajlar, osteoklastlar, epitel hücreleri, polimorfonükleer lökositler, monositler, lenfositler ve mast hücreleri gibi periodonsiyumdaki çeşitli hücreler tarafından üretilirler [94]. Makrofaj enflamatuar protein-1α, monosit kemotraktan protein-1 ve onkogen/keratinosit kökenli kemokin bu grupta yer alır [93].

Büyüme faktörleri: Platelet orjinli büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü, VEGF bu grupta yer alır [92].

İmmünoregülatörler: İL-2, İL-4, İL-5, İL-7 bu grupta yer alır [92].

Periodontal hastalıklarda mikrobiyal dental plağa bağlı oluşan doku yıkımı ve kemik rezorpsiyonundan İL-1, İL-6, İL-11, İL-17, TNF-α gibi pro-enflamatuar sitokinler, yıkım sürecinin kontrolünden ve inhibisyonundan ise İL-4, İL-10, İL-12, İL- 13, İL-18, İFN-γ gibi anti-enflamatuar sitokinler sorumludur [95]. Sitokinler; lokal, sistemik ve enflamatuar cevapların düzenlenmesinde, yara iyileşmesi ve hematopoezis gibi birçok biyolojik temelli mekanizmada, enflamatuar cevabın süresini ve şiddetine etki ederek enflamasyonda etkin rol oynarlar. Periodontal hastalıkların patogenezinde sitokinlerin rolü bilinmektedir. Periodontal hastalıkların primer etiyolojik faktörü olan mikrobiyal plağa karşı verilen uygun sitokin yanıtının konak cevabı ile denge sağladığı ve periodontal hastalıkların stabil durumu ile ilişkili olduğu, uygun olmayan sitokin yanıtının ise dengeyi doku yıkımını arttırıcı yönde değiştireceği ve periodontal hastalığın ilerlemesine ve doku yıkımına neden olacağı bildirilmiştir [88, 94].

Çizelge 2.10. DOS içeriğindeki bileşenler [87]

Konak kaynaklı enzimler ve inhibitörleri	Doku yıkım ürünleri	Enflamatuar mediyatörler ve konak yanıtı değiştiriciler
♦ Aspartat aminotransferaz ♦ Alkalen fosfataz ♦ Asit fosfataz ♦ β-Glukurodinaz ♦ Elastaz ♦ Elastaz inhibitörleri ♦ Katepsinler ♦ Tripsin benzeri enzimler ♦ İmmünoglobulin parçalayıcı enzimler ♦ Glukozidazlar ♦ Dipeptidil peptidazlar ♦ Spesifik olmayan nötral proteinazlar ♦ Kollojenazlar o MMP-1, MMP-3, MMP-8, MMP-13 ♦ Jelatinazlar o MMP-2, MMP-9 ♦ MMP-1'in doku inhibitörü (TIMP-1) ♦ Stromelisinler ♦ Miyeloperoksidaz ♦ Laktat dehidrojenaz ♦ Arilsülfataz ♦ Kreatinin kinaz	♦ Gliozaminoglikanlar o Hiyalüronik asit, Kondrotin-4-sülfat, Kondrotin-6-sülfat, Dermatan sülfat ♦ Hidroksiprolin ♦ Fibronektin parçaları ♦ Bağ dokusu ve kemik proteinleri o Osteonektin, Osteokalsin, Tip 1 kollojen peptitleri, Osteopontin ♦ Laminin ♦ Kalpronektin ♦ Hemoglobin β zincir peptitleri ♦ Pridinolin çapraz bağlantıları	♦ Sitokinler o İL -1α, İL-1β, İL-1ra, İL-2, İL-6, İL-8, TNF-α, İFN α ♦ Rantes (Makrofajların ve lenfositlerin kemoatraktan ve aktivatörü) ♦ Prostoglandin E_2 ♦ Lökotrien B4 ♦ Akut faz proteinleri o Laktoferrin, Transferrin, C reaktif protein, α_2 makroglobulin, α_1-proteinaz inhibitör ♦ Otoantikor o Anti-desmosomal antikor ♦ Antibakteriyel antikorlar o $İgG_1$, $İgG_2$, $İgG_3$, $İgG_4$, İgM, İgA ♦ Plazminojen aktive-edici faktör (PA) ♦ PA inhibitör-2 ♦ Substans P ♦ Vazoaktif intestinal peptit ♦ Nörokinin ♦ Neopterin ♦ Platelet aktive-edici faktör (PAF) ♦ CD14 ♦ Sistatin ♦ Calgranulin A (MRP-8)

2.4.2. Dişeti oluğu sıvısı örnekleme yöntemleri

DOS örneklerinin toplanması ve hacimlerinin belirlenmesi için literatürde farklı yöntemler kullanılmaktadır [20, 96].

Dişeti oluğu yıkama yöntemi: Bu teknikte dişeti oluğu, Hanks'in dengeli tuz solüsyonu gibi, genellikle sabit hacimli izotonik bir solüsyonla yıkanır. Bölgeden mikro şırıngalar ile toplanan sıvı hücreler ve plazma proteinleri gibi çözünür bileşenleri içeren DOS'un seyreltilmiş halini temsil eder. Bu tekniğin en büyük dezavantajı, aspirasyon ve yeniden aspirasyon prosedürü sırasında tüm sıvının geri kazanılamamasıdır. Bu nedenle, DOS hacminin veya bileşiminin doğru bir şekilde ölçülmesi mümkün değildir [20].

Kapiller tüp yöntemi: İlgili bölgenin izolasyonu ve kurutulmasının ardından, dişeti oluğu girişine iç çapı bilinen kılcal tüpler yerleştirilir. DOS, tüpün içine geçer ve tüpün iç çap hacmi bilindiğinden, toplanan sıvının hacmi, DOS'un geçtiği mesafe hesaplanarak belirlenebilir [97]. Bu teknik, hacmi doğru bir şekilde değerlendirilebilen seyreltilmemiş DOS numunesi sağladığı için ideal görünmektedir. Bu yöntemde, örnek alınan bölgeler büyük hacimlerde DOS içermedikçe, kısa sürede yeterli miktarda DOS toplamak zordur ve dişeti oluğunda kılcal boruları uzun süre tutmak travmaya neden olur [20].

Kâğıt şerit yöntemi: Bu yöntem oluk içi ve oluk dışı yöntem olmak üzere ikiye ayrılır. Oluk içi yöntemde standart steril kağıt şeritler dişeti oluğu içerisine sığ (1 mm derinliğe yerleştirilir) veya derin (direnç hissedilen noktaya kadar yerleştirilir) olarak yerleştirilir ve en sık kullanılan yöntemdir [98]. Oluk dışı yöntemde ise standart steril kâğıt şeritler dişeti oluğu girişine yakın yerleştirilir. Sağlıklı periodonsiyumda cep derinliği az olduğu için sığ oluk içi yöntem ile derin oluk içi yöntem arasında pek fark bulunmamaktadır. Kağıt şerit yönteminin avantajları arasında, kullanımının hızlı ve kolay olması, tek tek ayrı bölgelere uygulanabilmesi ve doğru kullanıldığında en az travmaya neden olan yöntem olması sayılır [20].

Diğer yöntemler: Plastik stripler, platin halka, mikrospatüller, gargaralar ve DOS toplama cihazları [96].

2.4.3. Dişeti oluğu sıvısı hacim belirleme yöntemleri

Kâğıt şeritler üzerinde ıslanmış olan bölgelerin mikroskop altında değerlendirilmesi: Kâğıt şerit üzerinde toplanan DOS ninhydrin ile boyanır ve ardından mikroskop ile incelenir. Bir diğer yöntemde ise DOS örneklemesinden 2 saat önce hastalara sistemik 2 g fluorescein verilir ve alınan DOS örnekleri ultraviyole ışık altında incelenir [99]. Bu teknik toplanan hacmi ölçmek yerine DOS'un varlığını veya yokluğunu belirlemek için kullanılmasına rağmen, protein boyama için fluorescein boyamanın ninhydrin'den 100 kat daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Hasta başında kolayca uygulanamaması ve inceleme zamanının uzun olmasından kaynaklanan buharlaşma yöntemin dezavantajlarındandır [20].

Kağıt şeritlerin tartılması: Kağıt şeritlerin ağırlıkları örnekleme öncesi ve sonrası hassas bir tartı (Resim 2.1) ile tartılır ve aradaki fark hesaplanır [20].



Resim 2.1. Hassas tartı

Periotron ile ölçüm: Şimdiye kadar periotronun HAR-600, Periotron-6000, Periotron-8000 (Resim 2.2) olmak üzere üç modeli üretilmiştir. DOS hacmi elektriksel olarak tespit edilir. Kalibrasyonunun hassasiyeti nedeniyle daha çok 0,1 ile 1,2 µl arasındaki hacimleri doğru bir şekilde algılayabilen bir cihaz olarak görülür [20].



Resim 2.2. Periotron 8000 cihazı

Örnekler arasında karşılaştırmaya izin vermek için örnek toplamada standardizasyon gereklidir. Standardizasyon, tekrarlanabilir bir toplama prosedürü ile tüm bölgelerin aynı süre boyunca örneklenmesiyle elde edilir. DOS örneklerinin toplanması sıklıkla standart steril kâğıt şeritler ile yapılır ve genellikle 30 s'lik numune alma süresi tercih edilir [100-102].

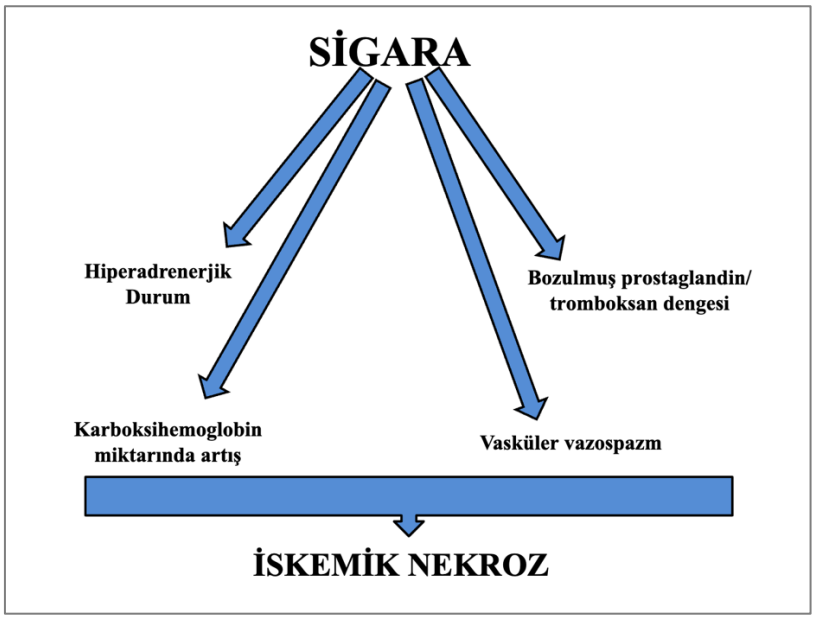
2.5. Sigara

Sigaranın insan vücudu üzerindeki etkilerinin çoğu, sigara dumanındaki toksik bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Sigara dumanı; nikotinin, eser miktarda ağır metallerin, aromatik hidrokarbonların, aldehitlerin ve fenollerin bir karışımıdır [103]. Sigara dumanı partikül fazı (katran, nem, nikotin) ve gaz fazı olmak üzere iki faz içermektedir [104, 105]. Sigara dumanının yanması, gaz fazında fotokimyasal reaksiyonlara neden olur ve bunların solunması, yüksek reaktif oksijen türleri (ROS) konsantrasyonlarının artmasını indükler [106]. Partikül fazı ise polisiklik aromatik hidrokarbonlar başta olmak üzere pek çok toksik kimyasalı içerir. Sigara dumanı, neredeyse her organ sisteminin işleyişini bozar ve kanser, kalp hastalığı ve kanser dışı solunum yolu hastalıkları ile ölümlerin çoğuna neden olur. Sağlık riskleri yalnızca tütün kullanan kişiyi değil, istemeden dumana maruz kalan (pasif içici) kişileri de kapsar [107].

2.5.1. Sigara ve hipoksi

Sigara ile ilgili en temel biyokimyasal değişikliklerden biri, doğrudan hipoksi ve iskemiye neden olan karboksihemoglobin miktarında meydana getirdiği artıştır [108]. Sigara, karboksihemoglobin dışında, hiperadrenerjik durum, bozulmuş prostaglandin / tromboksan dengesi ve vasküler vazospazm nedeniyle iskemik nekroza neden olur (Şekil 2.4) [109]. Sigara dumanındaki karbonmonoksit, oksijenin hemoglobine bağlanmasını inhibe eder ve dokulara taşınan O_2 miktarının azalmasına neden olur. Bunun sonucunda gelişen hücresel ve biyokimyasal süreçler; lokalize mukozal alanların hipoksik olmasına, anormal enflamasyona, gaz dengesi anormalliklerine ve çeşitli organ sistemlerinde hipoksiye neden olabilir [10, 11]. Yu ve ark., çalışmalarında periodontitis gelişiminde oksijen eksikliğinin de etkili olduğunu ortaya koymuştur [110]. Subkütanöz dokularda oksijen seviyelerini değerlendiren bir çalışmada, günde 1 paket sigara içen bireylerin günün uzun bir bölümünde doku hipoksisi yaşadıkları bildirilmiştir [111].

Kim Y-S ve ark.'nın (2012) çalışmaları nikotin ve LPS ile uyarılmış periodontal ligament hücrelerinde (PDLH), nikotin ve LPS'nin zamanla ve doza bağlı bir şekilde HIF-1α ekspresyonunu indükleyebildiğini gösterirken; HIF-1β protein seviyesinin PDLH'lerinde nikotin veya LPS'den etkilenmediğini göstermektedir [112].



Şekil 2.4. Sigaranın neden olduğu biyokimyasal değişiklikler [109]

2.5.2. Sigaranın periodontal dokulara etkisi

Sigara kullanımının periodontal hastalıkların başlaması ve ilerlemesinde major risk faktörü olduğu kabul görmektedir [113-120] ve periodontal dokulara birçok etkisi mevcuttur (Çizelge 2.11) [30]. Sigaranın periodontal hastalıklardaki en önemli etkisi, ana bileşeni olan nikotin etkisi ile damarlarda yaptığı vazokonstrüksiyondur ve bu etkisiyle dokulara kanın ve oksijenin yeterli miktarlarda taşınmasını engeller [9]. Ayrıca nikotinin farmakokinetik olarak sempatik sinir sistemini stimüle ederek hiposavilasyona neden olduğu bildirilmiştir. Bu etkisi; diş ve dişetleri üzerinde bakteri plağı oluşumunu kolaylaştırıcı zemin hazırlar [121].

Sigaranın zararları etkilerini ortaya çıkaran mekanizmalar, insanlarda ve hayvanlarda in vivo ve in vitro olarak incelenmiştir. Sigara nikotininin, apoptotik mekanizmalar yoluyla insan periodontal ligament fibroblastlarının büyümesini inhibe ettiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [122-124]. İn vitro çalışmalar, nikotinin osteoblast hücrelerinde osteojenik gen aktivasyonunda olumsuz etkileri olduğunu ortaya koymuştur [125]. Tanaka ve ark. (2006), nikotinin LPS ile birlikte osteoklast benzeri hücrelerin oluşumunu uyardığını göstermiştir [126].

Sigaranın genel olarak, konak yanıtını 2 mekanizma ile değiştirerek periodontal yıkımın artmasına neden olabileceği öne sürülmüştür. Bunlar;

- Enfeksiyonu nötralize etmede normal konak yanıtının bozulmasına neden olması
- Çevredeki sağlıklı periodontal dokuların tahrip olmasına neden olan değişiklikler olarak açıklanmıştır [127].

Sigaranın immün sistem üzerinde; proenflamatuar sitokin artışı ve enflamatuar hücrelerin fonksiyonu, diferansiyasyonu ve proliferasyonunu bozması gibi çeşitli etkileri vardır [128]. Adezyon molekülü bileşenlerinin salgılanmasını düzensizleştirir, uygun olmayan lökosit-endotel bağlanmasına ve aktivasyonuna neden olur, kan damarlarında lökosit tutulmasına neden olur ve ardından lökositle ilişkili doku hasarına yol açar [129]. Sigara kullanımının trombositlerin, makrofajların ve fibroblastların proliferasyonunu azaltarak yara iyileşmesini geciktirmesi, platelet adezyonunu arttırarak kılcal damarlarda oluşan pıhtılar nedeniyle mikroperfüzyonu azaltması, oksijenin hemoglobine bağlanmasını azaltarak ve kütanoz

vazokonstrüksiyon yaparak dokunun beslenmesini azaltması gibi birçok olumsuz etkileri bilinmektedir [30]. Sigara hiç içmemiş, içip son 9 yıldır bırakmış ve içen bireylerin değerlendirildiği 10 yıllık bir çalışmada, sigara kullanan bireylerde 10 yılın sonunda kemik kaybı miktarında ve periodontal hastalığın gelişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik tespit edilmiştir [115]. Ayrıca sigara kullanımının, oral hijyen alışkanlıklarını olumsuz etkileyerek, bireyleri periodontal hastalığa yatkın hale getiren bir faktör olarak da görev aldığı bildirilmiştir [115].

Çizelge 2.11. Sigaranın periodontal dokulara etkisi [30]

	Sigaranın Etkisi
Mikrobiyoloji	• Plak akümülasyonuna etkisi yoktur. • Sığ ceplerde periodontal patojenlerin kolonizasyonu artar. • Derin ceplerde periodontal patojenlerin miktarı artar.
İmmünoloji	• Değişmiş nötrofil fonksiyonu • DOS'ta TNF-α ve PGE2 artışı • DOS'ta nötrofil kollojenaz ve elastaz artışı
Fizyoloji	• Enflamasyonda artış ile gingival damarlanmada azalma • Enflamasyonda artış ile DOS akışında ve sondlamada kanamada azalma • Subgingival sıcaklıkta azalma • Lokal anestezinin geçme süresinde uzama

2.5.3. Sigara ve periodontal hastalık

Deneysel hayvan çalışmaları, nikotinin osteojenik farklılaşmada ve hücre dışı matriks ve kan damarlarının oluşumunda rol oynayan çeşitli faktörlerin ekspresyonunu zayıflattığını ortaya koymuştur [130, 131]. Danielsen ve ark.'nın (1990) deneysel gingivitis modelli çalışmalarında, sigara içenlerde dişeti damarı miktarının içmeyenlerin yarısı kadar olduğu tespit edilmiştir [132].

Schenkein ve ark. (1995), sigaranın G-AP hastalarında hastalık şiddetini arttırdığını, lokalize agresif periodontitis hastalarında ise herhangi bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir [133]. Bu durum lokalize agresif periodontitis hastalarının hastalık başlangıç yaşının ergenlik dönemlerinde olması ve sigaraya başlama yaşının daha ileri yaşlarda olmasıyla açıklanmıştır [134].

Sigara dumanında bulunan ve konak-bakteri etkileşimini etkileyen nikotin; sigara içen bireylerin DOS ve tükürüklerinde saptanmıştır [135]. Ağır sigara içicilerinin [136], sigara

içmeyenlere kıyasla periodontal ataşman kaybı ve/veya kemik kaybı açısından iki ile sekiz kat daha fazla riskle karşı karşıya olduğu bildirilmiştir [118]. Stabholz ve ark.'ı (2010) da sigara içen bireylerde içmeyenlere kıyasla daha fazla periodontal ataşman kaybı olduğunu bildirmişlerdir [137]. Sigarayı bırakmanın yıkıcı periodontal hastalıkların başlama ve ilerleme riskini azaltması ve periodontal tedaviye yanıtı iyileştirdiği bilinmektedir [138]. Sigaradan uzak durmak periodontal sağlığın korunmasında önemli bir faktördür.

Sigara kullanımının DOS hacminde meydana getirdiği değişiklikleri bildiren çalışma sonuçlarında farklılıklar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda sigara kullanan bireylerde kullanmayanlara kıyasla daha düşük DOS hacimleri bildirilirken [139, 140], bazılarında ise sigara kullanımıyla DOS hacminde artış olduğu bildirilmiştir [8, 141].

Sigara içmenin klinik parametreler üzerindeki etkisini araştıran bazı kesitsel çalışmalarda sigara içmeyenlerin sigara içenlere göre daha yüksek GI ve SK değerlerine sahip olduğu bulunmuştur [142-144]. Sigara içmeyenlerin daha yüksek GI skorlarına sahip olması, kan damarlarında vazokonstrüksiyona neden olan nikotin ile ilişkilendirilmiştir fakat nikotinin etkileri tartışmalıdır; kan akışını azalttığı [145], önemli ölçüde arttırdığı [146] veya değiştirmediği [147] yönünde iddialar bulunmaktadır. Sigara içenler ile içmeyenler arasında GI ve SK değerlerinde anlamlı bir fark olmadığını gösteren [148] ve sigara içenlerin içmeyenlere göre daha yüksek değerlere sahip olduğunu gösteren [116] çalışmalar da mevcuttur.

Grossi ve ark. (1997) periodontitise sahip sigara içen ve içmeyen bireyler arasında SK skorlarında gruplar arasında farklılık olmadığını bildirmiştir [149]. Bergström ve ark. (2001) periodontitise sahip bireylerde sigara içmeyenlere kıyasla sigara içenlerin PI skorlarının daha yüksek olduğunu, SK skorlarının ise daha düşük olduğunu bildirmişlerdir [150]. Farina ve ark. (2011), periodontal hastalığa sahip bireylerde hem sigara içme durumu hem de günlük sigara tüketimi ile SK arasında hiçbir fark olmadığını bildirmişlerdir [151]. Toker ve ark.'nın (2011) çalışmasında sigara içen ve içmeyen periodontitis hastalarının klinik indeks değerlerinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir [152].

Sigara içenlerin, cerrahi olmayan periodontal tedaviden sonra sigara içmeyenlere göre daha yüksek ortalama CD değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir [136, 153]. Ancak Pucher ve ark. (1997) ilk periodontal tedaviden 9 ay sonra sigara içenler ve içmeyenler arasında CD ve

KAS skorlarında herhangi bir fark bulamamışlardır [154]. Sigara içmenin periodonsiyum üzerindeki etkisinin dolaylı olduğu belirtilmiş ve bu durumun sigara içenlerde içmeyenlere göre ağız hijyeninin yetersiz olması ve plak birikiminin artmasından kaynaklandığı belirtilmiştir [155, 156]. Ancak homojen gruplarda sigaranın periodonsiyum üzerindeki zararlı etkilerinin sadece plak miktarı ve kötü ağız hijyeninden kaynaklanmadığı, aynı zamanda sigaranın direkt doku yıkımının etkisinden de kaynaklandığı gösterilmiştir [114, 157].

Erdemir ve ark. (2006) sigara içen ve içmeyen kronik periodontitis hastalarında yaptıkları çalışmalarında; cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası her iki grupta da PI değerlerini inceleme dönemlerinde aynı olarak bulmuşlardır [158]. Bu sonucun sigara içmenin diş plağı üzerinde doğrudan bir etkisi olmadığı görüşünü desteklediği bildirilmiştir [158].

2.6. Hipoksi

Oksijen, aerobik enerji metabolizması için oldukça önemlidir ve hücrelerin metabolik aktiviteleri için gerekli olan özellikle adenozin trifosfat (ATP) üretimi gibi enerji üretim süreçlerinde yer alır ve bu nedenle nihayetinde yara iyileşmesinde önemli bir rol oynar. Optimum oksijenasyon, esas olarak anaerobik bakterilerin büyümesinin neden olduğu enfeksiyona karşı koyduğu, anjiyogenezi desteklediği ve hücre proliferasyonunu ve kollojen sentezini desteklediği için oldukça önemlidir [159]. Oksijen homeostazı canlı çok hücreli organizmaların fizyolojik faaliyetlerini devam ettirebilmeleri için gereklidir [160].

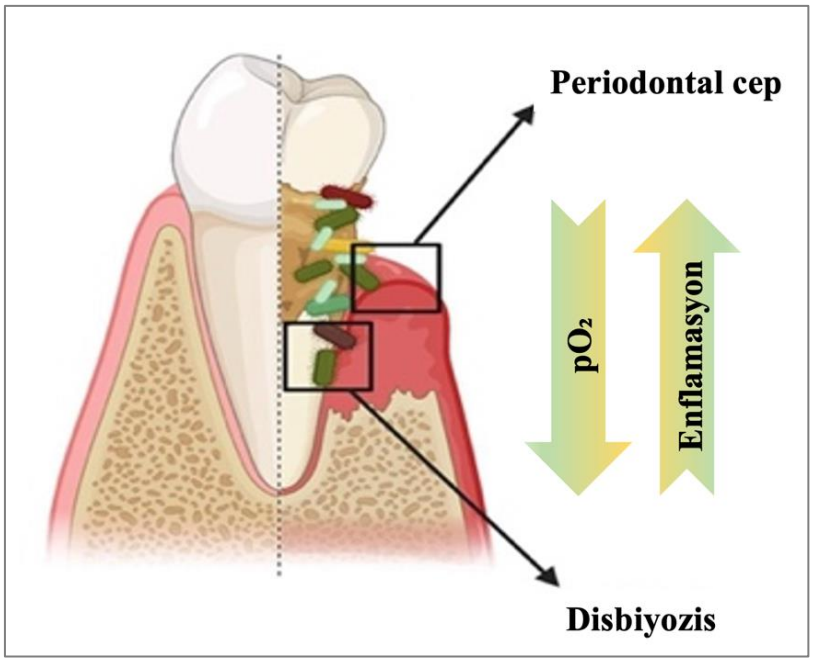
Organizmalar, homeostazı korumak için hücre içi oksijen seviyelerini koordine etmenin bir yolunu geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar başarısız olduğunda ve hücre içi oksijen konsantrasyonu azaldığında, hipoksi adı verilen bir stres durumu ortaya çıkar. Hipoksi oksijenin sistemik ya da lokal olarak tükenmesi olarak tanımlanır ve bu durum oksijen eksikliğine yanıt olarak dokularda bir dizi olayı tetikler [161-163]. Hipoksi, yüksek rakımlara veya insan hastalıklarına (örneğin kanser) adaptasyon gibi birçok süreçle ilişkili fizyolojik bir stres durumudur [164]. Çeşitli patolojik durumlar ve iskemik kalp hastalığı, romatoid artrit ve enflamatuar bağırsak hastalığı gibi enflamatuar bozukluklarda önemli bir rol oynar [160, 165]. Normal koşullarda ve hipoksik koşullardaki çeşitli oksijen seviyeleri tabloda tanımlanmıştır (Çizelge 2.12) [166].

Çizelge 2.12. Oksijen (O_2) seviyelerinin tanımlanması [166]

Durum	pO_2 (mmHg)	% O_2
Normal oksijen koşulları	159	% 21
Fizyolojik hipoksi	15-68	% 2-9
Hafif hipoksi	8-38	% 1-5
Hipoksi	< 8	< % 1
Anoksi	< 0,08	< % 0,01

2.6.1. Hipoksi ve periodontal cep

Periodontal cep, dişin çevresindeki gingival sulkusun patolojik olarak derinleşmesi olarak tanımlanır ve periodontal hastalıkların en önemli klinik özelliklerinden biridir [167]. Periodontal enflamasyon, diş ile çevresindeki dişeti dokusu arasındaki potansiyel boşluğa karşılık gelen sulkus derinliğinin patolojik artışı ile karakterizedir (Şekil 2.5) [168]. Periodontal cep, derinlik seviyesine bağlı olarak aerobik ve anaeorobik flora özelliklerinde farklılık gösterir. Periodontal ceplerde parsiyel oksijen basıncının (pO_2) değerlendirilmesi, cebin mikrobiyolojik bileşimini tanımlayan bir pO_2 değerleri spektrumu olduğunu göstermiştir. Orta derecede derin cepler (5-6 mm) ortalama 15 mmHg pO_2 sergilerken, derin cepler (7-10 mm) 12 mmHg civarında daha düşük bir pO_2 göstermiştir [169]. Bununla birlikte, en düşük pO_2 seviyeleri, *P.gingivalis* gibi iyi tanımlanmış patojenlerin gelişimi ile ilişkilendirilmiştir [169-171].



Şekil 2.5. Periodontitis varlığında periodontal cep derinliği artışı bölgede disbiyozis ile paralel gelişirken, enflamasyonun artması ve oksijen basıncının (pO_2) düşmesine yol açmaktadır [168]

2.6.2. Hipoksi ve kronik enflamasyon

Hipoksi, kronik enflamasyonun mikroçevresel özelliklerinden biridir [165]. Kronik enflamasyonda; enflame dokunun metabolik aktivasyonu nedeniyle dokuların oksijen ihtiyacı artar. Ayrıca damarsal vazokonstrüksiyon ve mikrotombozlar nedeniyle doku perfüzyonu zayıflar ve oksijen desteğinde azalma meydana gelir [172]. Bu durum, enfekte bölgelerde düşük oksijenli bir ortama ve hipoksik ortamlara adaptasyonun ana düzenleyicisi olan HIF-1α birikmesine yol açar [172, 173].

2.6.3. Hipoksinin periodontal dokulara etkisi

Hipoksi, vaskülarize diş destek dokularında kronik enflamasyon olarak tanımlanan periodontitis için patojenik bir faktör olarak kabul edilmektedir [174, 175]. Hipoksinin periodontal dokularda meydana getirdiği ilk etkinin enflamasyonu arttırması olduğu bildirilmiştir [26, 161]. Hipoksinin, periodontal hastalıklarda bakteriler için çevresel bir değişiklik yapmanın yanı sıra enflamatuar aracıların önemli bir düzenleyicisi olduğu [176], periodontal hastalıkların prognozu ve periodontal dokuların yıkımı üzerinde rol oynadığı bildirilmiştir [177].

Enflamatuar hastalıklarda vaskülarizasyonun derecesi hastalığın evresine, ilerlemesine ve iyileşme fazlarına bağlıdır; fakat periodontal vaskülarizasyonun hipoksiye nasıl yanıt verdiği açık değildir. Periodonsiyumdaki enflamatuar süreç, konak aracılı yıkıcı olaylara yol açan mikrobiyal biyofilmin ortadan kaldırılmamasından kaynaklı doku hasarı ile karakterize dinamik bir süreçtir [178, 179]. Periodontal ceplerdeki enflamasyon, düşük oksijen seviyeleri ve enflamatuar durumu stabilize eden asidik bir ortam sergiler. Enflamasyon ile indüklenen hipoksinin yanı sıra, çiğneme, öğütme veya ortodontik tedavinin neden olduğu mekanik stres de kan damarlarında iskemiye neden olacak bir deformasyona neden olabilir. Hipoksinin etkisini analiz eden çalışmalarda, azalmış oksijen seviyelerinin, periodontal ligament hücrelerinde oksidatif strese yol açan ROS oluşumunu arttırdığını göstermiştir [34]. Periodontal dokulardaki düşük oksijen seviyeleri önemli bir sinyal mekanizması oluşturup pro-enflamatuar gen ekspresyonunu modüle edebilir. Periodontitiste enflamatuar hücre artışı ve enfekte dokulardaki endotel hasarı ve doku ödemi, mikrodolaşımın bozulmasına, azalmış oksijen desteğine ve oksijen tüketiminde artışa neden olur [171, 180]. Son yıllarda, sağlıklı ve periodontitise sahip dokularda HIF-lα ekspresyon seviyeleri analiz edilmiştir [23]. Sağlıklı periodontal doku ile karşılaştırıldığında, periodontitise sahip dokuların daha fazla sayıda HIF-1α pozitif hücre gösterdiği bildirilmiş; bu durumun HIF-lα'nın periodontal hastalık ile ilişkili önemini ortaya koyduğu ileri sürülmüştür [23].

Periodontal hastalığın patogenezinde hastalık ilerlemesi sırasında konak yanıtı ile bakteriyel biyofilmin karşılıklı etkileşimi mevcuttur. Biyofilm oluşur, genişler, daha karmaşık bir hal alır; dişeti dokularındaki patolojik değişiklikler ve periodontal ataşmanın diş yüzeyi boyunca tahrip olması sonucu kommensal bakteriyel türler patolojik hale gelir [181]. Anaerobik bakteriyel biyofilmin büyüyüp gelişmesi periodontal dokuların çevresindeki oksijen seviyelerini düşürebilir [169]. Hastalıktan etkilenmiş periodontal ceplerde çoğalan gram negatif anaerobik patojenlerin, tedavi edilmemiş periodontal ceplerin tabanında daha düşük oksijen seviyelerine neden olduğu gösterilmiştir [171, 182]. Aynı zamanda periodontal cep derinleştikçe, oksijen miktarının azalması sonucu patolojik ve anaerobik bakteriler daha baskın hale gelir. Periodontal hastalıkların başlangıcı ve ilerlemesi arasında köprü görevi gördüğü bilinen *F.nucleatum'un* geç kolonize olan türlerin kolonizasyonuna yardımcı olduğu düşünülmektedir [183]. Mendes ve ark., *F. nucleatum'un* ortamdaki oksijeni tükettiğini öne süren in vitro çalışmalarına dayanarak [184, 185] *F.nucleatum'un* doğrudan endotel hücre aktivitesini modüle eden hipoksiyi indüklediğini öne sürmüşlerdir [186]. Çalışmanın verileri ışığında endotel hücrelerine *F. nucleatum* inkübasyonunda, bakterinin

ortamdaki oksijen seviyesini anlamlı olarak düşürdüğü gözlenmiştir. Hipoksiye yanıtta endotel hücrelerindeki değişiklikler erken fazda normoksik kontrol grubuyla benzer bulunmuştur. Fakat uzun bir hipoksi (24 saat) endotel proliferasyonunu önemli ölçüde bastırmıştır. Hipoksi, 4 saatlik inkübasyondan sonra tüm HIF izoformlarının ekspresyonunun (HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α) istatistiksel olarak anlamlı derecede artmasına neden olmuştur. Fakat bu etki geçici olmuştur; -24 saat sonra başlangıç seviyelerinde veya altında- HIF ekspresyonunda önemli bir azalmayla sonuçlanmıştır. Bu bulgu hipoksiye kronik maruz kalmanın hücre fonksiyonundaki değişiklikler için kritik olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca HIF tarafından hedeflenen alt genler araştırılmış ve VEGF salınımının 4 saat sonra önemli ölçüde arttığı bulunmuştur ($p<0.05$). Çalışma sonuçlarına göre insan endotel hücreleri; hipoksik koşullar altında azalmış proliferasyon ve HIF izoformlarının aracılık ettiği baskılanmış ve düzensiz anjiyogenez göstermiştir [186].

Periodontal hastalık patogenezindeki aşamalar arasında kesin sınırlar bulunmamaktadır. Bireylerin konak cevabındaki farklılıkları, hastalık aşamalarındaki geçişlerde önem arz etmektedir. Hastalık kimi bireyde yıllarca aynı seviyede kalıp geriye dönebilirken, kimi bireylerde ise hızlı ilerleyip başlangıç lezyonundan periodontitis tablosuna dönüşebilir. Hipoksinin hastalığın ilerlemesi sürecindeki rolü bu bilgiler ışığında yorumlanarak değerlendirilmelidir.

2.7. Hipoksi ile İndüklenen Faktör Ailesi (HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α)

Hücreler oksijensiz koşullar altında canlılıklarını devam ettirebilmek için enerji metabolizmasını, anjiyogenezi, demir metabolizmasını ve hücre proliferasyonunu denetleyen çeşitli genlerinin transkripsiyonuna ihtiyaç duyar. Eritroprotein (EPO) memelilerde eritrosit üretimini ve dokularda oksijen dağılımını düzenleyen glikoprotein yapıda bir hormondur [187]. EPO RNA seviyelerinin, hipoksik koşullarda birkaç yüz kat arttığı bildirilmiştir. Semenza ve Wang 1992'de EPO'nun çekirdekte yer alan, oksijene bağımlı çalışan, hipoksiye yanıt olarak artan ve DNA'ya bağlanabilen bir transkripsiyonel kompleks ile etkileştiğini keşfetmişledir. Bu kompleksi HIF olarak adlandırmışlardır [187]. Kısa süre sonra HIF sisteminin hipoksiye karşı geniş bir hücresel ve sistemik yanıt yelpazesinin anahtar düzenleyicisi olduğu ve tüm memeli hücrelerinde etkili olduğu anlaşılmıştır. HIF tarafından doğrudan veya dolaylı olarak düzenlenen gen ifadesindeki değişiklikler, 100'den fazla gene kadar uzanır. HIF aracılı yollar; metabolik adaptasyonu,

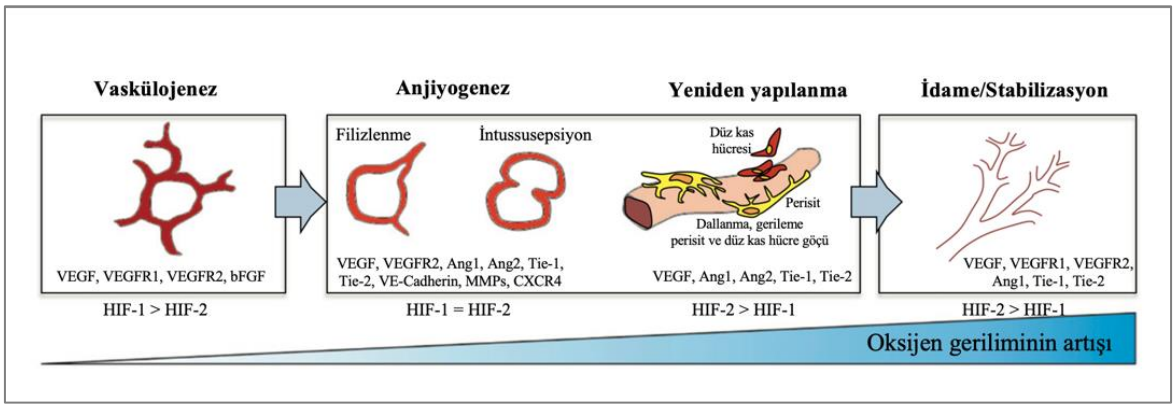
eritropoezi, anjiyogenezi ve vasküler tonu, hücre büyümesi ve farklılaşmasını, hayatta kalma ve apoptozu etkiler ve bu nedenle gelişim, fizyoloji ve hastalıkta kritik faktörlerdir [188]. HIF, epitel hücrelerinde ve makrofajlar, nötrofiller, T-hücreleri ve dendritik hücreler dahil olmak üzere bağışıklık hücrelerinde ifade edilir [189].

Oksijen seviyelerindeki değişiklikler, çeşitli hipoksi yanıt genlerinin ekspresyonunun ana düzenleyicisi olan HIF tarafından algılanır [172, 187]. Bu protein hedef genlerin hızlandırıcı bölgesinde bulunan ve hipoksiye cevap elementi olarak tanımlanan 5'-(A/G)CGTG-3' dizisine bağlanarak ifade edilmelerini sağlamaktadır [173]. HIF-1, HIF-2 ve HIF-3 olarak tanımlanmış 3 adet HIF proteini bulunmaktadır. HIF molekülü, oksijene duyarlı α alt birimi (değişken ve 1, 2 ve 3 olarak sınıflandırılır) ve yapısal olarak ifade edilen bir β alt birimi olarak iki bileşenden oluşur [190]. Oksijen varlığında, HIF-1α, Von Hippel-Lindau Protein-Ubiquitin Ligaz kompleksine bağlanarak proteazomal bozulmaya uğrar. Buna karşılık, hipoksik koşullar altında, HIF-lα proteazomal yıkımdan kaçar, çekirdeğe translokasyon yoluyla geçer, burada HIF-1β ile bir kompleks oluşturur ve bir dizi HIF hedef geninin transkripsiyonunda yer alır. Bu nedenle periodontal dokularda HIF-lα protein artışının saptanmasının periodonsiyumda hipoksik durumun artmasının ve enflamasyonun bir göstergesi olabileceği ileri sürülmüştür [24, 186, 191]. Ek olarak, HIF-1α'nın mitokondriyal solunum üzerinde de önemli bir etkiye sahip olduğu keşfedilmiştir. HIF-1α, fosforilasyon yoluyla piruvat dehidrojenaz enzimini inhibe eden piruvat dehidrojenaz kinazın ekspresyonunu indükler. Böylece piruvat asetil-CoA'ya dönüştürülmez, bu da piruvatın krebs döngüsüne girmesini önler. Sonuç olarak, mitokondriyal oksijen tüketimi aşağı yönde regüle edilir ve hipoksik ROS üretimi zayıflatılır [192]. HIF-1α, krebs döngüsü ve mitokondriyal solunumun inhibisyonu yoluyla aşırı miktarda ROS üretmeden yeterli miktarda ATP üretmek üzere hipokside glikoz ve oksijen kullanımını optimize etmek için temel metabolik yolları modüle eder [193].

Hipoksinin neden olduğu değişiklikler arasında ilk sırada HIF-α alt birimlerinin stabilizasyonu ve oksijen homeostazının düzenlenmesinde çok önemli bir transkripsiyon faktörü olan HIF-1 proteininin oluşumu bulunur [17]. HIF-1α ve HIF-2α protein yapıları bakımından % 48 oranında benzerlik göstermektedir [166]; ancak dokulara özgü ifade edildikleri ve farklı fonksiyonlara sahip oldukları bildirilmiştir [194]. Bazı hücrelerde HIF-1α'nın kısa periyotlarda (2-24 saat) yoğun hipoksi veya anoksi sırasında aktif olduğu, HIF-2α'nın ise hafif veya fizyolojik hipoksi altında aktif olduğu ve 48-72 saatlik hipoksiden sonra

bile aktif olmaya devam ettiği bildirilmiştir [166, 195]. Bu nedenle belirli durumlarda hipoksiye yanıtı ilk yönlendiren proteinin HIF-1α olduğu ancak hipoksiye kronik maruziyette hipoksik yanıtı yönlendirmedeki ana rolü oynayan proteinin HIF-2α olduğu bildirilmiştir [195].

Vasküler yapıların gelişimi sırasında HIF-1'den HIF-2 transkripsiyonuna geçiş oksijen gerilimlerine bağlıdır. Yoğun hipoksi altında meydana gelen vaskülojenez sırasında HIF-1 baskın bir rol oynar [166]. Anjiyogenez sırasında, hem HIF-1 hem de HIF-2 tamamlayıcı roller alır. Perisit ve düz kas hücre göçü gibi vasküler yeniden şekillenme ve stabilizasyonun son aşamaları daha az hipoksik koşullar altında gerçekleşir ve esas olarak HIF-2 tarafından yönlendirilir. Vasküler gelişimin çeşitli aşamaları şematize edilmiş ve yer alan HIF hedef genleri gösterilmiştir (Şekil 2.6) [166].



Şekil 2.6. Vasküler gelişim aşamaları ve yer alan HIF hedef genleri [166]

HIF proteinine ait 3 α-alt birimden en çok çalışılanları HIF-1α ve HIF-2α'dır. HIF-1α ve HIF-2α, pH regülasyonu, apoptoz ve glikolitik enzimler ve matris metalloproteinazlar dahil olmak üzere çeşitli işlevlere sahip proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonunu pozitif yönde düzenler [166]. HIF-3α, temel helix–loop–helix (bHLH) ve Per-Arnt-SIM (PAS) alanlarında HIF-1α ve HIF-2α ile yüksek benzerliğe sahiptir, ancak C-terminali işlem alanından yoksundur. HIF-3α'nın birden fazla ek varyantı vardır, en çok çalışılan HIF-lα 'nın baskın bir negatif inhibitörü olarak görev yapan kesilmiş bir protein olan inhibitör PAS domeyn proteinidir (IPAS) [166].

HIF-lα, hipoksi ile uyarılabilir hücresel yanıtlara cevap olarak yara iyileşmesi ve doku tamirinde birçok genin ekspresyonuna aracılık eder [165] Hücreler hipoksik koşullarda

olduğunda HIF-lα proteinin seviyesi belirgin şekilde artış gösterir [196]. HIF-1α birikimi ve aktivasyonun enfekte dokulardaki oksijen yetmezliğine bir cevap olduğu bildirilmiştir [160, 165]. HIF-1α'nın aşırı ekspresyonu, diyabet, romatoid artrit ve periodontitis gibi kronik enflamatuar hastalıklarla ilişkili bulunmuştur [26, 197, 198]. Periodontal hastalıklar ve durumlarda HIF seviyelerinde meydana gelen değişiklikler in vitro (Çizelge 2.13), deneysel (Çizelge 2.14) ve in-vivo (Çizelge 2.15) çalışmalarda incelenmiş ve listelenmiştir.

Hipoksi dışında, TNF-α ve İL-1β gibi pro-enflamatuar sitokinlerin de HIF ekspresyonunu tetikleyebildiği bildirilmiştir [199]. Periodontitis patogenezinde önemli rolü olan TNF-α, normoksik koşullar altında nükleer faktör-kappa B (NF-KB) ve Toll-like reseptör-4 aktivatörü yoluyla HIF-1α'nın transkripsiyonel aktivitesini arttırır [200, 201]. TNF-α, periodontal hastalığı olan hastaların DOS, tükürük ve dişeti dokularında artmış seviyelerde bulunmuştur [202-204]. Ayrıca hipoksik koşullar altında periodontal enflamasyon, yara iyileşmesi [205, 206] ve alveolar kemik yeniden şekillenmesiyle [207, 208] ilişkili primer anjiyogenetik mediyatör VEGF ifadesi de artmaktadır. HIF-1α ve onun aşağı yönde düzenlenmesine etkileyici olan VEGF, hipoksik olmayan bir uyaran olan TNF-α ile indüklenen enflamasyon aracılığı ile de oksijenden bağımsız olarak artabilir [200, 209-212].

Periodontitiste, periodontal dokuların hipoksik ve iskemik özellikler sergilediği gösterilmiş ve periodontitisli hastaların gingival doku örneklerinde HIF-1α protein ekspresyonunun varlığı çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir [23, 213, 214]. Liu K-Z ve ark. (2014) oksijen satürasyonunun gingivitis ve periodontitis doku bölgelerinde sağlıklı bölgelere kıyasla önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir [215].

HIF-1α'nın, in vitro çalışmalarda hipoksik koşullar altında birçok hücrede VEGF ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir [207, 208]. Kim ve ark.'nın (2012) in vitro çalışmalarda nikotin ve bakteriyel lipopolisakkaritlerin (LPS) periodontal ligament fibroblast hücrelerinde (PDLFH) HIF-1α ekspresyonunu indüklediği bildirilmiştir [112]. Ayrıca çeşitli çalışmalarda, hipoksik koşullar altında fibroblast ve periodontal ligament hücrelerinde HIF-1α ve VEGF ifadelerinin arttığı gösterilmiştir [174, 216, 217].

Ng. ve ark.'ı (2011), periodontitise sahip dokularda artan HIF-1α ekspresyonunun VEGF ve TNF-α ekspresyonun artışı ile de ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir [23]. Vasconcelos ve ark. (2016), periodontitis ve gingivitisli bireylerden alınan dişeti dokularında HIF-lα ve

VEGF ekspresyonlarının yüksek olduğunu, sağlıklı dişeti dokularında ise nispeten düşük olduğunu, ayrıca HIF-1 α'nın immün ekspresyonunun periodontitiste gingivitis ve sağlıklı diş etine göre istatistiksel daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir [24]. Kronik periodontitisin farklı evrelerinde alınan dişeti biyopsi örneklerinde; hastalık şiddetinin artmasıyla beraber, HIF-1α ekspresyonlarının belirgin şekilde arttığı belirtilmiştir [213]. G-AP ve periodontal sağlıklı bireylerin HIF-lα seviyelerini karşılaştıran iki çalışmada da DOS HIF-lα seviyeleri agresif periodontitisli hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur [26, 28]. Bu bulgular HIF-lα'nın periodontal enflamasyonun patofizyolojisi ile olan ilişkisini göstermektedir [23, 28].

Peri-implantitise sahip dokulardan alınan biyopsi örnekleri immünohistokimya yöntemiyle incelendiğinde, periodontitise sahip dokularla benzer olarak HIF-1α seviyelerinde artış olduğu saptanmıştır [218]. Peri-implantitis grubunda anlamlı derecede yüksek HIF-1α immün boyama, bakteriyel enfeksiyonun yanı sıra hipoksinin, periodontal hastalıklarda olduğu peri-implant hastalığın patogenezine de katkıda bulunduğunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 2.13. HIF seviyelerinin incelendiği in-vitro araştırmalar

Yazar (Yıl)	Örnek	Gruplar (*N*)	İncelenen Biyobelirteçler	İnceleme Yöntemi	Sonuçlar
Blouin ve ark. (2003) [196]	• Sıçan alveolar makrofajları	• Grup 1: Kontrol • Grup 2: LPS ile uyarılmış • Grup 3: Hipoksi ile uyarılmış	• HIF-1α • VEGF • PAI-1 • GLUT-1 • iNOS	• İmmünohistokimya • Western Blot • Northern Blot	Çalışma sonuçları LPS'nin, HIF-1α protein ekspresyonunu artıran spesifik hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak, hipoksik genlerin aktivasyonunda yer aldığını göstermiştir.
Song ve ark. (2012)[219]	• Periodontal ligament hücreleri (PDLH) *(Ortodontik tedavi amacıyla çekilmiş dişler)	• Grup 1: Kontrol • Grup 2: Kobalt klorür ($CoCl_2$) uygulanan	• HIF-1α • İL-1β • MMP-8 • BNIP3	• ELISA • Reverse Transkriptaz PCR (RT-PCR) • Western Blot	PDLH'nin $CoCl_2$ ile indüklenen hipoksiye maruz kalmasının, HIF-lα yolunun aktivasyonu nedeniyle apoptoz ve otofaji ile hipoksik hücre ölümü ile sonuçlandığı bildirilmiştir.
Kim Y-S ve ark. (2012)[112]	• Periodontal ligament hücreleri (PDLH)	• Grup 1: Nikotin ile uyarılmış • Grup 2: LPS ile uyarılmış	• HIF-1α • COX-2 • PGE2 • MMP-2 • MMP-9 • COX-2	• ELISA • Western Blot • Zimografi	Nikotin ve LPS'nin doza bağımlı bir şekilde HIF-1α ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir.
Yu XJ ve ark. (2015) [110]	• İnsan periodontal ligament hücreleri (PDLH) *(Premolar dişler)	• Grup 1: Kontrol • Grup 2: %2 O_2, %5 CO_2, %94 N_2'den hipoksik ortam	• HIF-1α • RANKL • OPG	• ELISA • İmmünohistokimya • RT-PCR	Normoksik koşullarda inkübe edilen PDLH, HIF-1α ekspresyonu göstermezken, hipoksik koşullarda inkübe edilen hücreler HIF-1α çekirdek ekspresyonu göstermiştir.
Gölz ve ark. (2015) [214]	• Periodontal ligament hücreleri (PDLH) *(Ortodontik tedavi amacıyla çekilmiş dişler) • Gingival Biyopsi	• Grup 1: LPS ve normoksik koşullar ile uyarılmış • Grup 2: LPS ve hipoksik koşullar ile uyarılmış • Grup 3: Normoksik koşullar ile uyarılmış • Grup 4: Hipoksik koşullar ile uyarılmış • Grup 1: Periodontal sağlıklı grup • Grup 2: Gingivitis • Grup 3: Periodontitis	• HIF-1α • VEGF • NF-KB • İL-1β • MMP-1	• İmmünohistokimya • RT-PCR	Sadece hipoksik koşullar altında inkübasyondan 4 saat sonra HIF-1α seviyelerinde anlamlı artış gözlendiği, diğer tüm uyarılma periyotları için HIF-1*a* ekspresyonu üzerinde hiçbir etki saptanmadığı bildirilmiştir. Gingivitis ve periodontitis gruplarında, sağlıklı gruba kıyasla yüksek HIF-1α, VEGF, NF-KB seviyeleri tespit edilmiştir.
Takedachi ve ark. (2017) [163]	• Gingival epitelyum hücreleri	• Grup 1: *P. gingivalis* ile enfekte farelerden alınan dokular • Grup 1: *P. gingivalis* ile enfekte olmamış farelerden alınan dokular • Alt Grup 1: İL-1β ve hipoksik koşullar altında kültürleme • Alt Grup 2: Hipoksik koşullar altında kültürleme	• HIF-1α • İL-6 • İL-8	• İmmünohistokimya • RT-PCR • Western Blot	Hipoksik koşullar altında HIF-1α birikiminin olduğu ve bu birikimin İL-1β kültürleme ile daha da arttığı bildirilmiştir.

Çizelge 2.13. (devam) HIF seviyelerinin incelendiği in-vitro araştırmalar

Yazar (Yıl)	Örnek	Gruplar (*N*)	İncelenen Biyobelirteçler	İnceleme Yöntemi	Sonuçlar
Mendes ve ark. (2018)[186]	• Endotel hücreleri	• Grup1: Kontrol • Grup 2: Hipoksik koşullar ve *F. nucleatum* ile inkübasyon • Grup 3: Normoksik koşullar ve *F. nucleatum* ile inkübasyon	• HIF-1α • HIF-2α • HIF-3α • VEGF • TNF-α • İL-1α • CD-31 • CD-34 • COX-2 • iNOS	• Real-time PCR • Flow sitometri	Hipoksik koşullar ile inkübasyondan 4 saat sonra tüm HIF izoformlarının ekspresyonu arttığı ($p<0.05$); fakat bu etki geçici olduğu, 24 saat sonrasında HIF seviyelerinin başlangıç seviyesinde veya daha altında olduğu bildirilmiştir. VEGF ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla ilk 4 saatte anlamlı artışı tespit edilmiştir ($p<0.05$).
Klara Janjic ve ark. (2018)[220]	• Dental pulpa hücreleri	• Grup 1: Kontrol • Grup 2: Hipoksi ile inkübasyon • Grup 3: L-mimosine ile inkübasyon	• HIF-1α • HIF-2α • HIF-3α • VEGF • SDF-1 • İL-8	• ELISA • RT-PCR • Real-time PCR • Western Blot	L-mimosine ve hipoksi ile indüklenen gruplarda HIF-lα, HIF-2α için bantlar tespit edilmiş, kontrol grubunda ise belirgin bantlar tespit edilmemiştir. Tüm gruplarda HIF-3α için bantlar izlenmiştir.
Klara Janjic ve ark. (2019) [221]	• Periodontal ligament fibroblast hücreleri (PDLFH)	• Grup 1: Hipoksi ile inkübasyon • Grup 2: L-mimosine ile inkübasyon • Grup 3: *E. coli (Escherichia coli)* ve *P. gingivalis* LPS ile inkübasyon	• HIF-1α • TNF-α • İL-1β • ANGPTL-4	• ELISA • RT-PCR • Real-time PCR • Western Blot • Histoloji	Hem hipoksi hem de L-mimosine uygulamalarından sonra Western blot incelemelerinde HIF-1α seviyelerinde artış gözlenmiştir.
Qian Xu ve ark. (2019)[222]	• Periodontal ligament kök hücreleri (PDLKH) *(16 hastanın ortodontik tedavi amacıyla çekilmiş premolar dişleri)	• Grup 1: Kontrol • Grup 2: Hipoksi ile inkübasyon	• HIF-1α • VEGF • RUNX-2	• İmmunohistokimya • Real-time PCR • Western Blot • İmmunoflorasan	PDLKH'leri farklı zaman periyotları (0, 12, 24, 48, 72 saat) boyunca hipoksi (%3 O_2) altında kültürlenmiş ve 0 saat normoksi kontrol grubunu temsil ettiği bildirilmiştir. HIF-1α ekspresyonunun kontrol grubunda güçlükle tespit edilmesine karşın, hipoksik uyarılma ile anlamlı derecede indüklendiği bildirilmiştir.($p<0.05$)
Liu ve ark. (2019) [223]	• Periodontal ligament kök hücreleri (PDLKH) *(Ortodontik tedavi amacıyla çekilmiş dişler)	• Grup 1: Kontrol • Grup 2: Hipoksi ile inkübasyon	• HIF-1α • TGF-β1 • RUNX-2	• Real-time PCR • Western Blot	TGF-β1'in PDLKH'nde HIF-1α'nın stabilizasyonunu indükleyebildiğini ve iki biyobelirtecin birlikte osteogenezi sinerjik olarak inhibe edebildiği bildirilmiştir.

Çizelge 2.14. HIF seviyelerinin incelendiği deneysel araştırmalar

Yazar (Yıl)	Gruplar (*N*)	İncelenen Biyobelirteçler	İnceleme Yöntemi	Sonuçlar
Huang ve ark. (2011) [224]	Ratlardan oluşan gruplar • Grup 1: Kontrol grubu • Grup 2: Deneysel periodontitis grubu • Grup 3: Stres uyarımlı grup • Grup 4: Deneysel periodontitis ve stres uyarımlı grup	• HIF-1α	• İmmünohistokimya	Grup 4'te HIF-1α ekspresyon seviyeleri Grup 3'e kıyasla anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. Grup 1'de 1., 4., 6., ve 8., haftaların hiçbirinde HIF-1α ifade eden hücrelere rastlanmamıştır.
Cheng ve ark. (2017) [161]	Ratlarda oluşturulmuş periodontitis modeli • Grup 1: *P. gingivalis* LPS ve normoksik koşullar ile uyarılmış • Grup 2: *P. gingivalis* LPS hipoksik koşullar ile uyarılmış • Grup 3: *E. coli* LPS ve normoksik koşullar ile uyarılmış • Grup 4: *E .coli* LPS hipoksik koşullar ile uyarılmış	• HIF-1α • İL-1β • NLRP3 • C-cas1	• İmmünohistokimya • RT-PCR • Quantum Dot (QD)	*E. coli* LPS'nin, deneysel periodontitis modelinde normoksik fazı hipoksik faza dönüştürdüğü bildirilmiştir.
Terrizi ve ark. (2018) [225]	Ratlardan oluşan gruplar • Grup 1: Kontrol-normoksik (12) • Grup 2: Kronik-sürekli hipoksi (12) • Grup 3: Kronik-aralıklı hipoksi (12)	• HIF-1α • PGE2	• RT-PCR	HIF-1α mRNA seviyelerinin her iki hipoksik grupta da kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu ($p<0,05$), ancak sürekli ve aralıklı uygulama yapılan gruplar arasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir.
Ebersole ve ark. (2018) [226]	Rhesus Maymunları • Grup 1: ≤ 3 yaş (genç) • Grup 2: 3-7 yaş (ergen) • Grup 3: 12-16 yaş (yetişkin) (n:5) • Grup 4: 18-23 yaş (yaşlı) (n:6) Grup 3 ve 4'te periodontitise sahip bölgeler mevcut.	• HIF-1α • HIF-1β • HIF-2α • HIF-3α	• Mikrodizi gen analizi	Yaşlı gruptan alınan klinik olarak sağlıklı kabul edilen doku örneklerinde HIF-1α ve HIF-1β seviyelerinde anlamlı bir yükselme olduğunu tespit etmişlerdir.
Kimito Hirai ve ark. (2018)[227]	Ratlarda oluşturulmuş periapikal lezyon modeli • Grup 1: Dimetiloksalilglisin (DMOG) ile aktivasyon • Grup 2: Adenovirüs kaynaklı yapısal aktif HIF-1 ile aktivasyon	• HIF-1α • NF-KB	• ELISA • İmmünohistokimya • RT-PCR • Western blot • Flow Sitometri • Makrofaj kültür	HIF-1α aktivasyonunun periapikal enflamasyonu ve kemik kaybını azalttığı bildirilmiştir. Veriler, HIF-1α aktivasyonunun NF-KB, pro-enflamatuar sitokinler, makrofajlar ve osteoklastogenezin aşağı regülasyonu yoluyla apikal periodontitis gelişiminde koruyucu bir rol oynadığını ileri sürmüştür.

Çizelge 2.14. (devam) HIF seviyelerinin incelendiği deneysel araştırmalar

Yazar (Yıl)	Gruplar (*N*)	İncelenen Biyobelirteçler	İnceleme Yöntemi	Sonuçlar
Kaixian Yan ve ark. (2020)[228]	Ratlarda oluşturulmuş periodontitis modeli • Grup 1: *P. gingivalis* LPS ile uyarılmış • Grup 2: P maddesi ile uyarılmış	• HIF-1α • TNF-α • RANKL • OPG	• İmmünohistokimya • Western blot	Periodontitis grubunda normal dokulara kıyasla anlamlı derecede yüksek HIF-1α seviyeleri gözlendiği bildirilmiştir. Dışardan uygulanan P maddesi'nin, in vitro olarak 1 ug / ml LPS ile uyarılmış ve uyarılmamış dişeti fibroblastlarındaki HIF-1α seviyesini anlamlı düzeyde yükselttiği bildirilmiştir.
Sağlam ve ark. (2020)[229]	Ratlarda oluşturulmuş periodontitis modeli • Grup1: Kontrol (10) • Grup 2: Topikal Ozon (10) • Grup 3: Sistemik Ozon (10)	• HIF-1α • RANKL	• İmmünohistokimya • Histopatolojik	HIF-1α pozitif hücrelerin topikal ozon uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı düşük olduğu bildirilmiştir. Sistemik ozon uygulanan ve topikal ozon uygulanan gruplar arasında HIF-1α seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Çizelge 2.15. HIF seviyelerinin incelendiği in-vivo araştırmalar

Yazar (Yıl)	Örnek	Gruplar (*N*)	İncelenen Biyobelirteçler	İnceleme Yöntemi	Sonuçlar
King-Tung NG. ve ark.(2011) [23]	• Biyopsi	• Grup 1: Periodontal sağlıklı (13) • Grup 2: Periodontitis (19)	• HIF-1α • VEGF • TNF-α	• İmmünohistokimya • RT-PCR • Western Blot	HIF-1α, VEGF, TNF-α protein seviyelerinin sağlıklı kontrollere kıyasla periodontal hastalığa sahip bireylerden alınan doku örneklerinde anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir ($p<0,01$). HIF-1α mRNA seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmediği, VEGF ve TNF-α mRNA seviyelerinin ise hastalıklı grupta, sağlıklı gruba kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir ($p<0,01$).
Shi ve ark. (2015) [213]	• Biyopsi	• Grup 1: Periodontal sağlıklı (16) • Grup 2: Orta derece kronik periodontitisli (20) • Grup 3: İlerlemiş kronik periodontitisli (20)	• HIF-1α • VEGF-C	• İmmünohistokimya	Periodontal sağlıklı grup ile kıyaslandığında kronik periodontitis gruplarında HIF-1α ve VEGF-C ekspresyonları anlamlı daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0,01$). Ayrıca ilerlemiş kronik periodontitis grubunda da orta derecede kronik periodontitis grubuna göre anlamlı yüksek tespit edilmiştir.
Vasconcelos ve ark. (2016) [24]	• Biyopsi	• Grup 1: Periodontal sağlıklı (30) • Grup 2: Kronik gingivitisli (30) • Grup 3: Kronik periodontitisli (30)	• HIF-1α • VEGF	• İmmünohistokimya	Periodontal sağlıklı gruba kıyasla her iki grupta da istatistiksel olarak yüksek immün boyama bildirilmiştir.
Cheng ve ark. (2017) [161]	• Biyopsi	• Grup 1: Periodontal sağlıklı (3) • Grup 2: Periodontitis (5)	• HIF-1α • İL-1β • NLRP3 • C-cas1	• İmmünohistokimya • RT-PCR • Quantum Dot (QD)	Periodontitise sahip bireylerden alınan dişeti örneklerinde HIF-1α pozitif, sağlıklı bireylerden alınan dişeti örneklerinde ise HIF-1α negatif immün boyama gösterdiği bildirilmiştir.
Marcia Fernandes de Arajuo ve ark. (2017) [218]	• Biyopsi	• Grup 1: Peri-implant sağlıklı (10) • Grup 2: Peri-implantitis (18)	• HIF-1α • CD-15 • CD-57	• İmmünohistokimya	Periimplantitis grubu, HIF-1α ve. CD-15 için artan immün boyama gösterdiği; ancak CD-57 için immün boyamada önemli bir fark bulunmadığı bildirilmiştir.
Taşkan ve ark. (2019) [230]	• Biyopsi	• Grup 1: Periodontal sağlıklı • Grup 2: Evre 3 derece B periodontitis hastalarının sağlıklı bölgeleri • Grup 3: Evre 3 derece B periodontitis hastalarının hastalıklı bölgeleri • Grup 4. Evre 3 derece C periodontitis hastalarının sağlıklı bölgeleri • Grup 5: Evre 3 derece C periodontitis hastalarının hastalıklı bölgeleri	• HIF-1α • VEGF • PH • LOX	• İmmünohistokimya	HIF-1α seviyelerinin derece C'ye sahip gruplarda en yüksek tespit edildiği ve hastalıklı bölgelerde azaldığı gözlenmiştir. HIF-1α seviyelerinin en düşük Grup 5'te tespit edilmiştir ($p<0.05$). VEGF seviyesinin periodontal sağlıklı gruba kıyasla diğer tüm gruplarda anlamlı yüksek olduğu bildirilmiştir.

Çizelge 2.15. (devam) HIF seviyelerinin incelendiği in-vivo araştırmalar

Yazar (Yıl)	Örnek	Gruplar (*N*)	İncelenen Biyobelirteçler	İnceleme Yöntemi	Sonuçlar
Tayman MA. ve ark. (2019) [28]	• DOS (Total - Konsantrasyon) • Serum	• Grup 1: Periodontal sağlıklı (20) • Grup 2: Generalize kronik periodontitis (G-KP) (21) • Grup 3: Generalize agresif periodontitis (G-AgP) (20)	• HIF-1α • VEGF • ADAMTS-1	• ELISA	DOS HIF-1α total seviyeleri G-AgP ve G-KP gruplarında, periodontal sağlıklı gruba kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. DOS VEGF total seviyeleri G-AgP grubunda G-KP ve periodontal sağlıklı gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
Karataş O. ve ark. (2019) [25]	• Biyopsi	• Grup 1: Periodontal sağlıklı, sigara içmeyen (15) • Grup 2: Periodontal sağlıklı, sigara içen (15) • Grup 3: Periodontitis, sigara içmeyen (15) • Grup 4: Periodontitis, sigara içen (15)	• HIF-1α • VEGF • MMP-8 • TIMP-1 • Bax • Bcl-2 • Kaspaz-3	• İmmünohistokimya	Sigaranın HIF-1α ve apoptotik protein Bax'ta anlamlı bir artışa ve Bcl-2'de azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte MMP ifadelerinde artış, TIMP ve VEGF ifadelerinde azalma gözlenmiştir. Enflamasyon açısından, sigara içen periodontitis hastalarının dişeti örneklerindeki toplam enflamatuar hücre sayıları; sigara içen sağlıklı, sigara içmeyen sağlıklı ve sigara içmeyen periodontitis hastalardan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.
Karataş O. ve ark. (2019) [231]	• Biyopsi	• Grup 1: Periodontal sağlıklı (15) • Grup 2: Evre 3 derece B periodontitis (15) • Grup 3: Peri-implant Mukozitis (15) • Grup 4: Peri-implantitis (15)	• HIF-1α • MMP-8 • PH • TIMP-1 • COX-2 • iNOS	• İmmünohistokimya	Sağlıklı bireylerin HIF-1α seviyelerinin diğer gruplardan anlamlı olarak daha düşük olduğu bildirilmiştir. Peri-implant mukozitis grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek HIF-1α seviyeleri, periodontitis ve peri-implantitis gruplarına göre ise daha düşük HIF-1α seviyeleri bildirilmiştir ($p<0.05$). PH seviyelerinin HIF-1α ile ters ilişki gösterdiği tespit edilmiştir.
Yüce B.H ve ark. (2019) [232]	• Biyopsi	• Grup 1: Sistemik sağlıklı, periodontal sağlıklı (16) • Grup 2: Sistemik sağlıklı, periodontitis (16) • Grup 3: Tip 2 diyabete sahip, periodontitis (16)	• HIF-1α • VEGF • MMP-8 • LH • PLOD-2	• İmmünohistokimya	Gruplar arasında LH ve HIF-1α ifadeleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. VEGF ekspresyonu periodontal sağlıklı gruba kıyasla diğer iki grupta da anlamlı olarak yüksek olup, gruplarda birbirine benzer tespit edilmiştir.

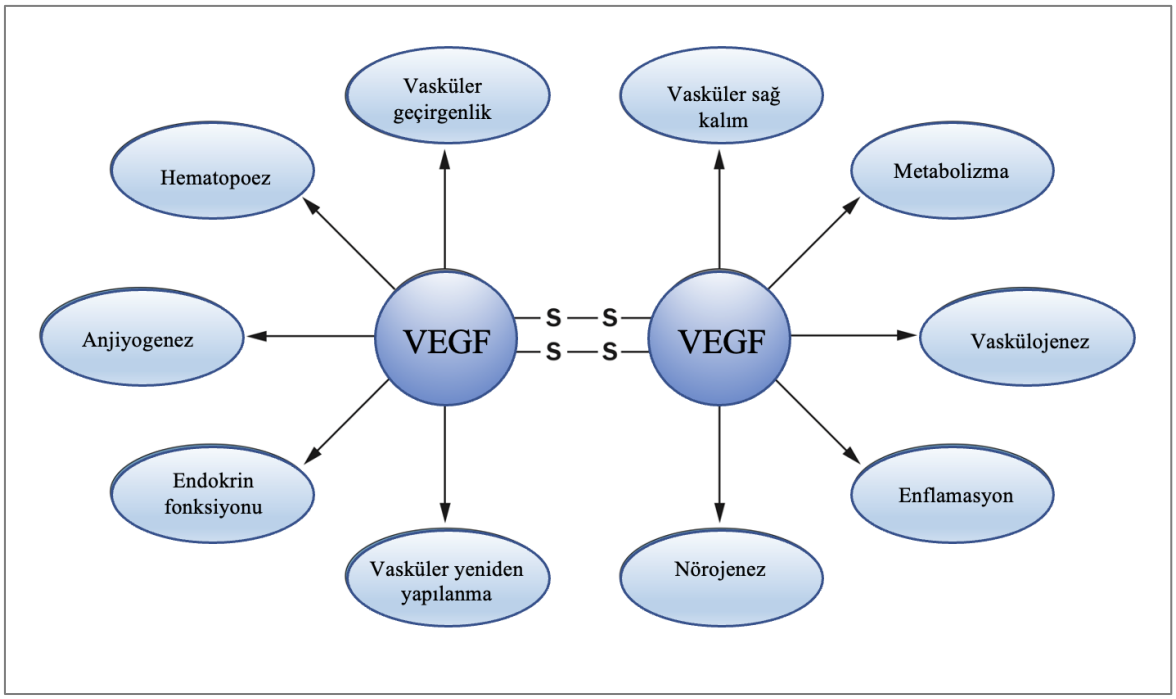
Çizelge 2.15. (devam) HIF seviyelerinin incelendiği in-vivo araştırmalar

Yazar (Yıl)	Örnek	Gruplar (*N*)	İncelenen Biyobelirteçler	İnceleme Yöntemi	Sonuçlar
Afacan B. ve ark. (2019) [26]	• DOS (Total - Konsantrasyon) • Tükürük	• Grup 1: Periodontal sağlıklı (21) • Grup 2: Gingivitis (26) • Grup 3: Kronik periodontitis (KP) (20) • Grup 4: Generalize agresif periodontitis (G-AgP) (20)	• HIF-1α • VEGF • TNF-α	• ELISA	G-AP ve KP gruplarında sağlıklı gruba kıyasla DOS HIF-1α, VEGF, TNF-α toplam miktarları anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. DOS HIF-1α ve VEGF total seviyeleri, G-AgP ve KP gruplarında gingivitis ve periodontal sağlıklı gruba kıyasla anlamlı yüksek bulunmuştur. Ayrıca bölgeye özgü klinik periodontal parametreler ve birbirleri ile anlamlı pozitif korelasyon sergilemiştir. Gingivitis grubunda da DOS HIF-1α ve TNF-α total seviyeleri sağlıklı gruptan anlamlı yüksek bulunmuştur. DOS HIF-1α ve VEGF konsantrasyon seviyeleri, periodontal sağlıklı grupta G-AgP, KP ve gingivitis gruplarına kıyasla anlamlı yüksek bulunmuştur. G-AgP grubunda da gingivitis grubuna kıyasla anlamlı bir yükseklik bildirilmiştir.
Akbulut ve ark. (2020) [233]	• DOS	• Grup 1: Bruksizmi olmayan periodontal sağlıklı bireyler (20) • Grup 2: Bruksizmi olmayan periodontitis hastaları (20) • Grup 3: Bruksizmi olan periodontal sağlıklı bireyler (20) • Grup 4: Bruksizmi olan periodontitis hastaları (20)	• HIF-1α • VEGF	• ELISA	Periodontitisli hastalar ve periodontal sağlıklı bireylerin DOS HIF-1α ve VEGF seviyeleri arasında farklılık bulunmadığı bildirilmiştir ($p>0,05$).
Afacan B. ve ark. (2020) [27]	• DOS (Total)	• Grup 1: Periodontal sağlıklı (20) • Grup 2: Generalize agresif periodontitis (G-AgP) (20)	• HIF-1α • VEGF • TNF-α	• ELISA	Başlangıçta tüm klinik parametreler ve DOS HIF-1α, VEGF ve TNF-α seviyeleri, G-AgP grubunda periodontal sağlıklı gruba göre yüksek gözlenmiştir ($p <0.05$). G-AgP hastalarında DOS HIF-1α seviyelerinin tedaviden sonraki 1. ve 3. aylarda azaldığı, ancak bu azalmanın anlamlı olmadığı bildirilmiştir ($p> 0.05$). DOS VEGF ve TNF-α seviyelerinin çalışma süresi boyunca değişmeden kaldığı bildirilmiştir.

2.8. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Anjiyogenez, önceden var olan kan damarlarından yeni kılcal damarların oluşumunu ifade eder ve kronik enflamatuar hastalıkların gelişiminde önemli bir süreçtir [234]. Yeni kan damarlarının pro-enflamatuar hücreleri enfekte bölgeye taşımasına ve enfekte dokulara oksijen sağlaması ile enflamasyonun şiddetine katkıda bulunabilir. Anjiyogenezin farklı basamaklarında, hipoksi ile indüklenen pek çok genin sürece katıldığı gösterilmiştir [235]. Anjiyogenezin düzenlenmesinde çok sayıda sitokin ve büyüme faktörü yer alır; VEGF spesifik olarak vasküler endotel üzerine etki eden en güçlü ajandır. VEGF, mikrovasküler geçirgenliği güçlü bir şekilde artıran, endotelyal hücre proliferasyonunu uyaran ve anjiyogenez için gerekli olan proteolitik enzim ekspresyonunu ve endotelyal hücrelerin, monositlerin ve osteoblastların göçünü indükleyen çok işlevli bir anjiogenik aracıdır [236].

Hipoksi, vasküler tonusu düzenler ve anjiyogenez için güçlü bir uyarıcıdır [16]. Hipoksiye kronik maruziyet ve anjiyogenezdeki değişiklikler enflamatuar hastalıklar, tümörler ve bunların metastazları [1, 237], iskemik hastalıklar [238] ve kemik ve doku yaralanmaları [239] dahil çeşitli patolojik durumlarla yakından ilişkilidir. VEGF, hipoksik koşullarda endotelyal hücrelerin proliferasyonunu stimüle ederek doğrudan anjiyogenezin içinde yer alır. Böylece VEGF ve diğer pro-anjiyogenetik faktörlerin indüksiyonu, vasküler yoğunluğu artırır ve oksijen difüzyon mesafesini düşürür [18, 19]. Vaskülarizasyon artışı dokulara ve yara iyileşmesi sürecindeki dokulara besin ve oksijen geri verilmesini sağlayarak homeostazı dengeler [178]. VEGF aracılığı ile gerçekleşen patolojik ve fizyolojik süreçler Şekil 2.7'de gösterilmiştir [240].



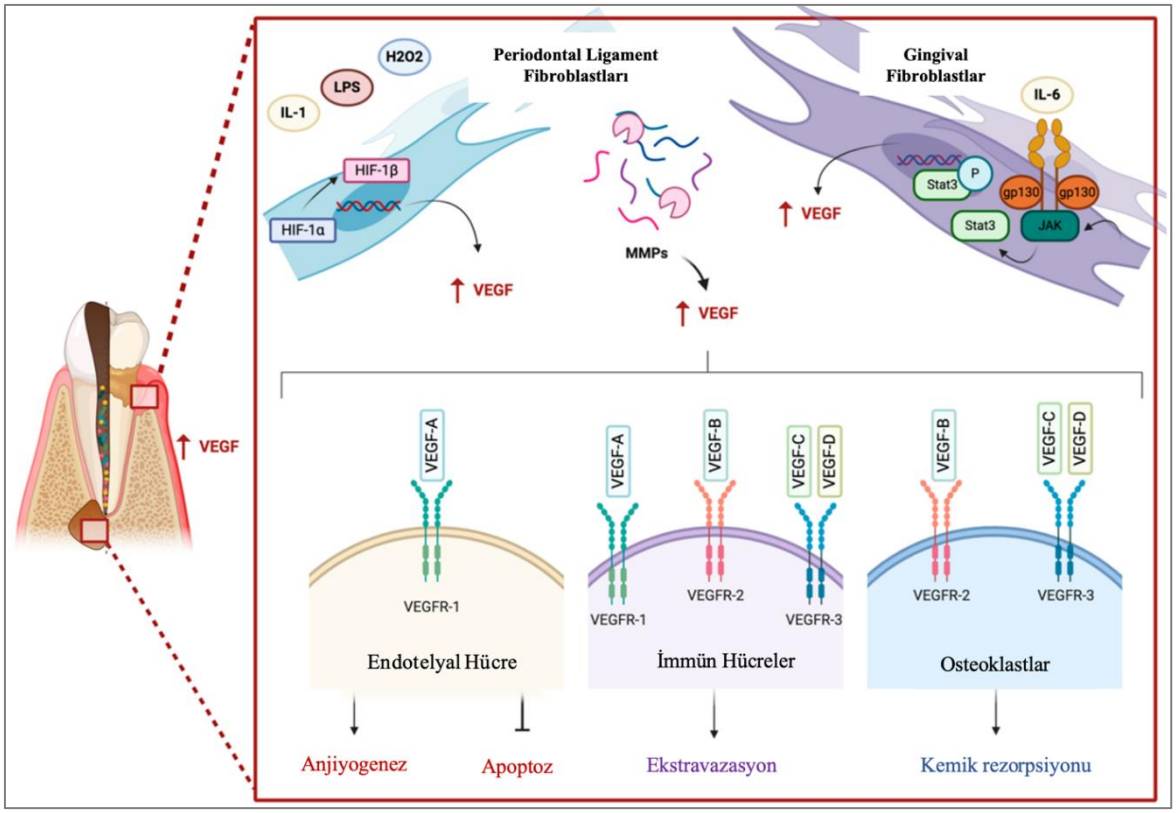
Şekil 2.7. VEGF aracılığı ile gerçekleşen patolojik ve fizyolojik süreçler [240]

VEGF, anjiogenik, mitojenik ve vasküler geçirgenliği düzenleyici özelliklere sahip olan ve böylece endotel hücrelerinin aktivitesini artıran bir glikoprotein türüdür. VEGF ailesi VEGF-A, VEGF-B, VEFG-C ve VEGF-D'nin yanı sıra plasental büyüme faktörü, parapox virüslerinde bulunan VEGF-E ve yılan zehrinde bulunan VEGF-F olmak üzere 7 üyeyi içerir. VEGF-A, vaskülojenez ve anjiyogenezin en güçlü uyarıcısı olarak kabul edilir [241]. Çalışmalarda sadece VEGF olarak verilen biyobelirteç verilerinin birçoğunun esasen VEGF-A olduğu görülmektedir. VEGF, vasküler geçirgenliği, vazodilatasyonu ve enflamatuar hücrelerin toplanmasını artırmaya ek olarak apoptozun inhibisyonunu tetikler ve hücresel proliferasyonu artırır [241]. VEGF'nin anjiyogenezdeki çarpıcı rolü, yıkıcı periodontal lezyonlarda granülasyon dokusu oluşumu ve immün hücre göçü ile ilgili olabilir. Enfeksiyon sırasında bağışıklık hücreleri ve endotel arasında yakın bir bağlantı oluşur. Bağışıklık hücreleri, endotel hücrelerinde VEGF/VEGFR yolağını aktive eden, vazodilatasyonu (ödem) indükleyen ve vasküler geçirgenliği artıran NF-KB sinyal yolunun ve enflamasyonun aktivasyonunu indükler [242]. Endotelin aktivasyonu lökositlerin kandan yaralanma bölgesine göç etmesine izin verir. VEGF, endotel bariyerini değiştiren ve nötrofiller, trombositler, makrofajlar, aktive edilmiş T hücreleri, dendritik hücreler, perisitler ve endotel hücrelerinin kendileri tarafından salgılanan ana çözünür faktördür [243, 244].

Enflamatuar periodontal hastalıklar sırasında VEGF transkripsiyonu iki yolağın aktivasyonu ile indüklenmektedir [245] :

1. Periodontal fibroblastlarda İL-1, LPS ve reaktif oksijen ürünlerinde (H_2O_2), HIF/VEGF yolunun aktivasyonu ile gerçekleşir.
2. İL-6, İL-6R, gp130 kompleksinin oluşumu, dişeti fibroblastları tarafından VEGF indüksiyonunu arttıran JAK/STAT yolunun aktivasyonu ile gerçekleşir.

Ayrıca VEGF hücre dışı matriksten MMP aracılı proteolitik bölünme yolu ile de salınabilir. VEGF sinyalinin enflamatuar periodontal hastalıklardaki rolü gösterilmiştir (Şekil 2.8) [245].



Şekil 2.8. VEGF'nin enflamatuar periodontal hastalıklardaki rolü [245]

VEGF, endotel hücreleri, plazma hücreleri ve makrofajlar periodontal dokularda bağlantı epitelinde, sulkuler epitelde ve dişeti epitelinde saptanabilir. Yeni kılcal damarların oluşumu ve vasküler geçirgenliğin artması, periodonsiyumun bakteriyel enfeksiyona karşı erken tepkisidir [246]. Dişeti endotel hücrelerindeki anjiyogenez düzenleyici moleküllerden trombosit endotelyal hücre adezyon molekülü, endoglin ve VEGF periodontitise sahip

hastalarda yüksek düzeylerde saptanmıştır [247, 248]. Prapulla ve ark. sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli bireylerden mikropipet yöntemiyle DOS toplamış ve VEGF konsantrasyonlarını kıyaslamışlardır. Gruplar arasında sağlıklıdan periodontitise doğru anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir [249]. Booth ve ark.'ı (1998) klinik olarak sağlıklı bölgelere kıyasla hastalığa sahip bölgelerde VEGF total miktarının daha fazla olduğunu bildirmiştir [205]. Sağlıklı bireyler ve gingivitisli bireyler ile karşılaştırıldığında, kronik periodontitisli hastaların DOS örneklerinde artmış VEGF oranları saptanmıştır [24, 205, 206]. Artmış DOS VEGF seviyelerine, bozulmuş periodontal vaskülarizasyon ve periodontitiste vasküler ağın genişlemesinin neden olduğu düşünülmektedir [250]. Anjiyogenez, enflamasyon ve iyileşmenin spesifik bir özelliğidir; ancak anjiyogenezin periodontal enflamasyonun ilerlemesini veya iyileşmesini desteklemedeki rolü açık değildir [205].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan alınan 04.06.2020 tarih ve E.13192 sayılı onay ile gerçekleştirildi (EK-1). Çalışmada uygulanacak yöntemler ve kapsamıyla ilgili katılımcılar bilgilendirilip, katılımcılardan bilgilendirilmiş ıslak imzalı hasta onam formu alındı (EK-2).

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya, Ocak 2021 ve Temmuz 2021 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na çeşitli periodontal şikayetler veya kontrol amacıyla başvuran bireyler arasından dahil edilme kriterlerini karşılayıp, çalışmaya katılmak isteyen gönüllüler seçildi. Çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllüler çalışma ile ilgili veriler toplandıktan ve gereken periodontal tedavileri tamamlandıktan sonra gerek görülen dental tedavilerine devam edilmesi için ilgili anabilim dallarına yönlendirildi.

Gönüllülerin çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- Sistemik olarak sağlıklı olmak [26, 27],
- 18-60 yaş aralığında olmak [26],
- Ağız içerisinde en az 20 doğal dişe sahip olmak olarak belirlendi [26].

Aşağıdaki çalışmaya dahil edilmeme kriterlerinden en az birine sahip bireyler çalışma dışı bırakıldı:

- Hamilelik ve laktasyon dönemindeki kadınlar [25, 232],
- Kemoterapi, radyoterapi ya da immünsupresyon tedavisi görmüş olmak,
- Örneklemeden önceki son 3 ay içerisinde çalışma sonuçlarını etkileyebilecek; antibiyotik, antienflamatuar, kortikosteroid gibi herhangi bir ilaç kullanmak [232],
- Son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmüş olmak [25, 231, 232],
- Ortodontik tedavi sürecine devam ediyor olmak [26, 27].

3.2. Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması

Çalışmaya dahil edilecek gönüllü sayısının belirlenebilmesi için güç analizi yapıldı (Şekil 3.1). % 89,854 istatistiksel güç elde edilebilmesi için, periodontal sağlıklı sigara içmeyen (Grup S), periodontal sağlıklı sigara içen (Grup SS), periodontitis teşhisi konulan sigara içmeyen (Grup P) ve periodontitis teşhisi konulan sigara içen (Grup PS) gruplara çalışma dahil edilme kriterlerine uygun olarak 22'şer gönüllünün dahil edilmesi planlandı.

One Way ANOVA Power Analysis

Numeric Results

Power	Average n	k	Total N	Alpha	Beta	Std Dev of Means (Sm)	Standard Deviation (S)	Effect Size
0,73195	15,00	4	60	0,05000	0,26805	0,50	1,22	0,4098
0,76433	16,00	4	64	0,05000	0,23567	0,50	1,22	0,4098
0,79354	17,00	4	68	0,05000	0,20646	0,50	1,22	0,4098
0,81976	18,00	4	72	0,05000	0,18024	0,50	1,22	0,4098
0,84317	19,00	4	76	0,05000	0,15683	0,50	1,22	0,4098
0,86396	20,00	4	80	0,05000	0,13604	0,50	1,22	0,4098
0,88235	21,00	4	84	0,05000	0,11765	0,50	1,22	0,4098
0,89854	22,00	4	88	0,05000	0,10146	0,50	1,22	0,4098
0,91274	23,00	4	92	0,05000	0,08726	0,50	1,22	0,4098
0,92515	24,00	4	96	0,05000	0,07485	0,50	1,22	0,4098
0,93596	25,00	4	100	0,05000	0,06404	0,50	1,22	0,4098
0,94534	26,00	4	104	0,05000	0,05466	0,50	1,22	0,4098
0,95345	27,00	4	108	0,05000	0,04655	0,50	1,22	0,4098
0,96045	28,00	4	112	0,05000	0,03955	0,50	1,22	0,4098

References

Desu, M. M. and Raghavarao, D. 1990. Sample Size Methodology. Academic Press. New York.
Fleiss, Joseph L. 1986. The Design and Analysis of Clinical Experiments. John Wiley & Sons. New York.
Kirk, Roger E. 1982. Experimental Design: Procedures for the Behavioral Sciences. Brooks/Cole. Pacific Grove, California.

Şekil 3.1. Gönüllü sayısının belirlenebilmesi için yapılan güç analizi

3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmaya dahil edilen bireylerin periodontal durumları değerlendirilip tanı konulurken 2017 yılında Avrupa Periodontoloji Federasyonu ve Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından yayımlanan periodontal ve peri-implant hastalıklar ve durumların sınıflandırılması ve kriterleri [73] kullanıldı.

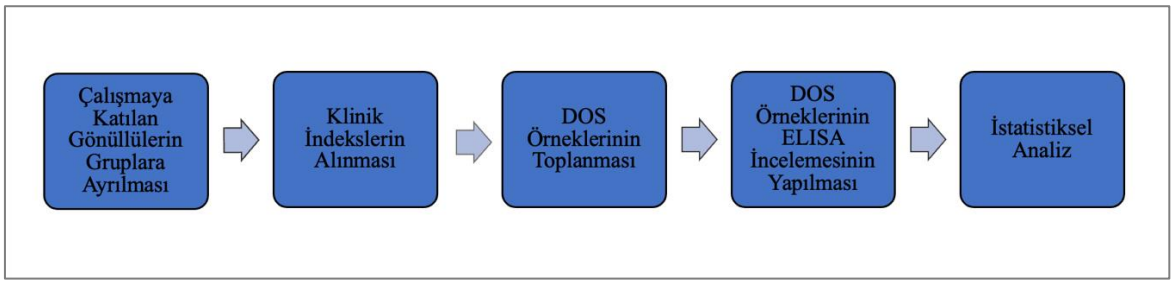
Çalışma gruplarının oluşturulmasında kullanılan kriterlere göre bireyler 4 farklı şekilde tanımlandı. *Sağlıklı bireyler;* klinik olarak sağlıklı ve ≤ 3 mm dişeti cebine sahip, sondlamada kanaması % 10'dan az, ataşman kaybı ve radyografik olarak kemik kaybı olmayan bireyler, *periodontitise sahip bireyler;* komşu olmayan en az 2 dişte interdental

alanda ataşman kaybına sahip ve dişlerde cep derinliği ve klinik ataşman kaybının ≥ 3mm olan klinik ve radyografik olarak evre 3, derece B veya C periodontitis teşhisi konulmuş hastalar [231], *sigara içen bireyler;* 5 yıldan uzun süredir günde 10 adetten fazla sigara kullanan bireyler [25, 251], *sigara içmeyen bireyler;* hiç sigara içmemiş bireyler olarak tanımlandı. Bu bilgiler ışığında gruplar oluşturuldu.

- Grup S (n:22): Periodontal sağlıklı, sigara içmeyen bireyler
- Grup SS (n:22): Periodontal sağlıklı, sigara içen bireyler
- Grup P (n:22): Periodontitisli (evre 3, derece B veya C), sigara içmeyen bireyler
- Grup PS (n:22): Periodontitisli (evre 3, derece B veya C), sigara içen bireyler

3.4. Çalışma Planı

Tüm bireylerin anamnez kayıtları araştırma akış şemasına (Şekil 3.2) uygun, önceden hazırlanan kişisel anamnez formlarına (EK-3) kaydedildi. Hastalardan alınan anamnezde, hastaların demografik bilgileri (yaş, cinsiyet vs.), daha önce periodontal tedavi görüp görmediği; gördü ise en son tedavi tarihi, diş fırçalama sıklığı, diş ipi/arayüz fırçası kullanımı gibi oral hijyen alışkanlıkları, sigara kullanım durumları ve miktarları, sistemik hastalığı olup olmadığı ve ilaç kullanım bilgileri öğrenildi ve kaydedildi.



Şekil 3.2. Araştırma akış şeması

Hastaların periodontal sağlık durumları aşağıdaki klinik indeksler rehber alınarak değerlendirildi ve periodontal klinik indeks formlarına kaydedildi (EK-4):

- Plak indeksi (Pİ) (Silness ve Löe, 1964) [252]
- Gingival indeks (Gİ) (Löe ve Silness, 1963) [253]
- Sondlamada kanama indeksi (SK) (Ainoma ve Bay, 1975) [254]

- Sondlama cep derinliği (CD)
- Klinik ataşman seviyesi (KAS)

3.5. Klinik İndeksler ve Ölçümler

Çalışmaya katılan bireylerin sistemik ve dental anamnezleri sözlü ve yazılı olarak detaylı şekilde alındıktan sonra, klinik parametreleri periodontal sond (Hu-Friedy, PCP-UNC 15, Chicago, IL, ABD) kullanılarak kaydedildi. Bireylere ait klinik indeks ölçümleri, mevcut tüm dişler için kaydedildi. Elde edilen veriler ile tüm ağız ve örneklem bölgesi için ortalama değerler hesaplandı.

Plak indeksi (Pİ) (Silness ve Löe 1964) [252]**:** Her bir dişin 6 yüzeyinden (mesiobukkal, midbukkal, distobukkal, mesiopalatinal, midpalatinal, distopalatinal) alınan değerlerin ortalaması alınarak dişlere ait Pİ değerleri belirlendi. Daha sonra elde edilen verilerin toplamının, toplam diş sayısına bölünmesi ile de bireye ait tüm ağız ortalama Pİ skorları hesaplandı.

Pİ [252] skorlarının karşılık geldiği klinik durumlar:

- 0: Diş yüzeyinde bakteri plağı yok.
- 1: Diş yüzeyinde gözle görülür bakteri plağı yok, periodontal sondun diş yüzeyinde gezdirilmesiyle sondun ucunda plak tespit edilmektedir.
- 2: Diş yüzeyinde orta düzeyde gözle görülür biçimde bakteri plağı mevcut, aproksimal alanda plak yoktur.
- 3: Dişeti oluğu ve interdental alanı kaplayan fazla miktarda plak mevcuttur.

Gingival indeks (Gİ) (Löe ve Silness 1963) [253]: Tüm dişlerin 6 yüzeyindeki (mesiobukkal, midbukkal, distobukkal, mesiopalatinal, midpalatinal, distopalatinal) gingival dokularda enflamasyonun düzeyinin belirlenmesi amacıyla, her bir dişin ve tüm ağzın Gİ skorları aritmetik ortalama ile hesaplandı. Bireylere ait tüm ağız Gİ skorları, tüm dişlerin ortalama Gİ değerleri toplamının, ağızdaki toplam diş sayısına bölünmesiyle elde edildi.

Gİ [253] skorlarının karşılık geldiği klinik durumlar:

- 0: Dişeti klinik olarak sağlıklı, enflamasyon, renk değişikliği, ödem ve sondlamada kanama yok.
- 1: Hafif enflamasyon, dişetinde hafif renk değişikliği mevcut, sondlamada kanama yok.
- 2: Orta şiddette enflamasyon, dişeti ödemli ve parlak kırmızı, sondlamada kanama var.
- 3: Şiddetli enflamasyon, kızarıklık, ödem ve ülserasyon mevcut, dişetlerinde spontan kanama var.

Sondlamada kanama indeksi (SK) (Ainoma ve Bay, 1975) [254]: Sondlamada kanama indeksi değerleri, periodontal sondun gingival sulkus içerisinde 1mm derinlikte dikkatlice gezdirilmesinin ardından 30 sn bekledikten sonra kanama varlığına göre hesaplandı [254]. Sulkus içerisinde kanama varlığı (+), yokluğu ise (-) değerler ile ifade edildi. Değerler her bir dişin 6 noktası (mesiobukkal, midbukkal, distobukkal, mesiopalatinal, midpalatinal, distopalatinal) için belirlenip, kanama (+) olan bölgelerin sayısı, değerlendirilen toplam bölge sayısına bölünerek sonuç yüzde olarak hesaplandı.

Sondlamada cep derinliği (CD): Tüm dişlerin periodontal cep ölçümleri, sondun dişlerin uzun eksenine paralel olarak yerleştirilmesi ile serbest dişeti kenarı ile cep tabanı arasındaki mesafenin hesaplanmasıyla yapıldı. Ölçümler her bir diş için 6 noktadan yapıldı. Alınan cep derinliği değerleri ile ortalama sondlama cep derinliği değerleri belirlendi. Değerler milimetre (mm) cinsinden kaydedildi.

Klinik ataşman seviyesi (KAS): Periodontal sond ile dişlerin mine sement sınırı ile cep tabanı arasındaki mesafesinin ölçülmesiyle hesaplandı. Değerler mm cinsinden kaydedildi.

3.6. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Elde Edilmesi

DOS örneklemelerinin, periodontitis grupları için cep derinliğinin en fazla olduğu bölgeden, periodontal sağlıklı grup için ise standardizasyon sağlamak amacıyla mümkün olduğunca anterior bölgedeki dişlerden yapılması kararlaştırıldı [26]. Örnek bölgesi öncelikle tükürük kontaminasyonunun engellenmesi amacıyla steril pamuk rulolar ile izole edildi. Supragingival plak diş yüzeyinden uzaklaştırıldı ve diş yüzeyi hava-su spreyi ile 10 saniye boyunca hafif basınç ile kurutuldu.

Örnekler 2×8 mm'lik standart steril kâğıt şeritler (Periopaper® Oraflow Inc., New York, ABD) ile elde edildi. Kağıt şeritler hafif bir direnç hissedilinceye kadar sulkus içerisine yerleştirilip (Resim 3.1) 30 saniye bekletildikten sonra [76], hastaya ait numaralandırılmış boş eppendorf tüplerine aktarıldı. Kâğıt şeritlerin kan ve tükürük ile kontamine olmamasına dikkat edildi, kontamine olan kağıt şeritler değerlendirme dışı bırakıldı.

Örnekleme öncesi, içerisinde 3 adet kâğıt şerit bulunan numaralandırılmış 1 adet propilen tüp hassas terazi (Presica 205 A SCS, İsviçre) ile tartıldı ve tartımlar mg olarak kaydedildi. Örnekleme sonrası ise, DOS içeren kâğıt şeritler aynı hastaya ait tüplere yerleştirilip yeniden tartılarak sonuçlar mg olarak kaydedildi. Örnekleme sonrası ve öncesi farkı ile DOS miktarı her bir birey için mg cinsinden belirlendi. DOS hacmi, DOS ağırlığına eşit kabul edilerek mg cinsinden değerler, µl birimine çevrildi. Örnekler biyokimyasal analizler yapılıncaya kadar Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Patoloji Anabilim Dalı'nda -30°C'de saklandı.



Resim 3.1. DOS örneklerinin toplanması

3.7. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin İncelenmesi

-30°C de saklanan örnekler, çözülebilmesi için 1 gece +4°C de bekletildi. DOS içeren striplerin içinde bulunduğu eppendorf tüplerinin her birine 300 µl fosfat tamponlu salin (PBS) solüsyon eklenip, 3'er dakika vortekslendi. 2 saat oda sıcaklığında bekletilerek, örnekler 5000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF seviyelerinin tespiti için;

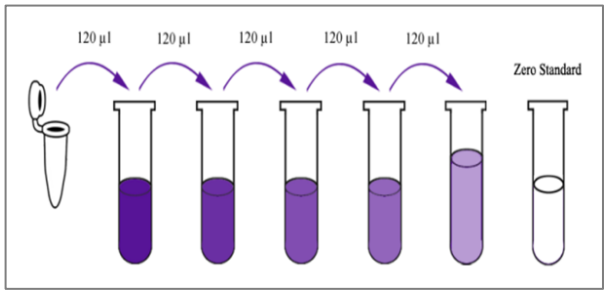
- HIF-1α ELISA Kiti (BT LAB ELISA, Bioassay Technology Laboratory Kit, Jiaxing, Zhejiang, China, hassasiyet düzeyi: 0,01 ng/ml)
- HIF-2α ELISA Kiti (BT LAB ELISA, Bioassay Technology Laboratory, Kit, Jiaxing, Zhejiang, China, hassasiyet düzeyi: 0,044 ng/ml)
- HIF-3α ELISA Kiti (BT LAB ELISA, Bioassay Technology Laboratory, Kit, Jiaxing, Zhejiang, China, hassasiyet düzeyi: 3,32 ng/L)
- VEGF ELISA Kiti (BT LAB ELISA, Bioassay Technology Laboratory Kit, Jiaxing, Zhejiang, China, hassasiyet düzeyi: 1,52 ng/L) kullanıldı (Resim 3.2).



Resim 3.2. ELISA kiti

Kitlerin içeriğindeki kullanma kılavuzuna bağlı kalarak ELISA işlemi aşağıdaki sıra ile çalışıldı:

1. Tüm solüsyonlar ve örnekler oda ısısına getirildi.
2. Kullanılacak tamponlar, standartlar, konjugatlar 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 ve sırayla görseldeki adımlar takip edildi (Şekil 3.3).

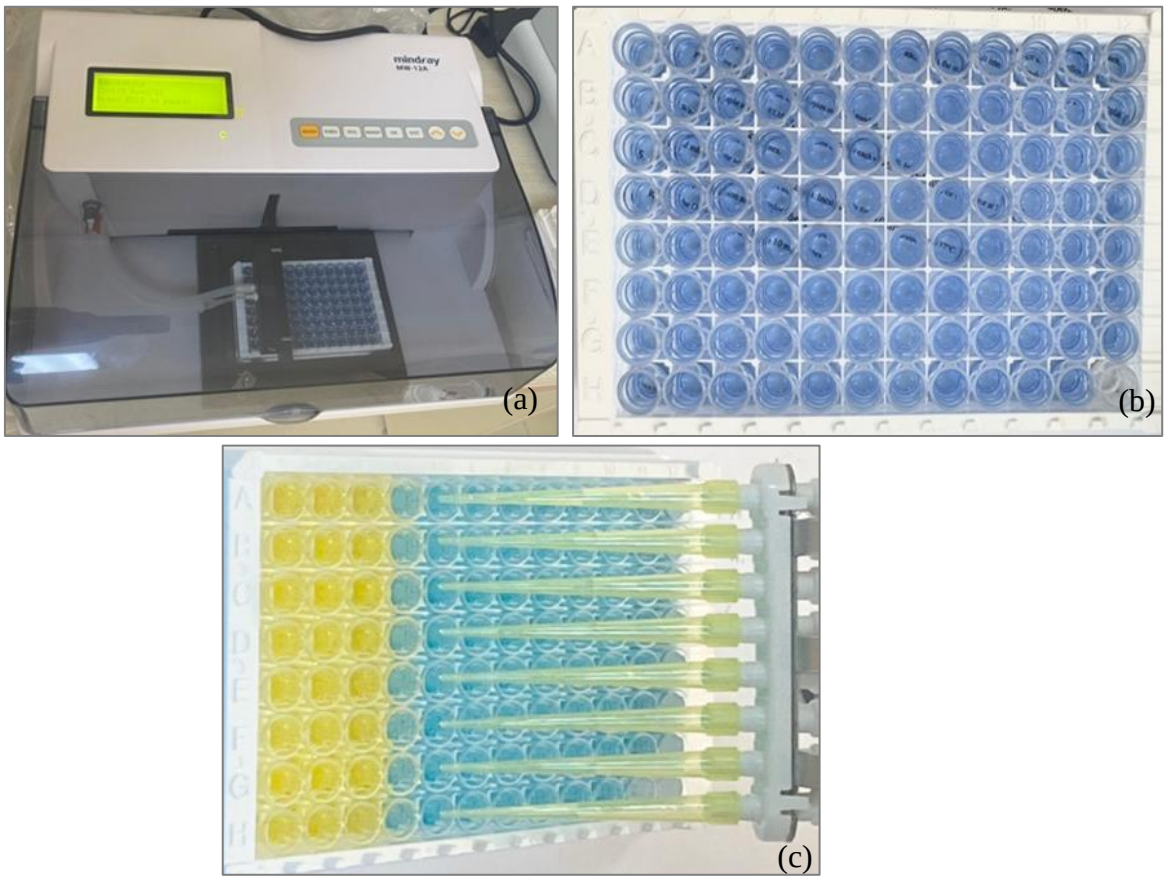


Şekil 3.3. Standart solüsyon için protokol

4. Mikroplak içindeki standartlar kuyucularına 50 µl hacminde standartlar eklendi. (Standart kuyucularına antikor eklenmedi, çünkü standart solüsyonları biyotinlenmiş antikor içermektedir.)
5. Mikroplak içindeki kuyucuklara her örnek ikişer adet olmak üzere 40 µl hacminde örnekler eklendi ve işaretlendi.
6. Örneklerin bulunduğu kuyucuklara 10 µl hacminde her çalışılan sitokine ait antikorlar eklendi.
7. Ardından örneklerin bulunduğu kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi. Plaklar yapışan film ile kapatıldı ve 1 saat 37°C'de inkübe edildi.
8. İnkübasyon süresi bitiminde yapışkan film çıkartılarak mikroplak içerisindeki kuyucular otomatik ELISA yıkayıcısında (Mindray, MW-12A, Nanshan, Shenzhen, China) 65 kez 350 µl yıkama solüsyonu ile otomatik olarak yıkandı (Resim 3.3.a).
9. Tüm kuyucuklara 50 µl substrat A ve 50 µl substrat B eklendi. Mikroplaklar yapışkan film ile kapatıldı ve 10 dakika 37°C'de karanlıkta inkübe edildi (Resim 3.3.b).
10. Süre bitiminde tüm kuyucuklara 50µl Stop solüsyonu eklendi, kuyucuklardaki mavi rengin sarıya döndüğü gözlendi (Resim 3.3.c).
11. Kuyucuların optik dansiteleri 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucu (Mindray, MR-96A, Nanshan, Shenzhen, China) ile okutulup analiz edildi.
12. Verilerin ortalaması alınarak örneklere ait değerler elde edildi. Elde edilen değerler her örneğin absorbans değerlerine göre kitin standart konsantrasyonlarına göre y=ax+b formülü kullanılarak hesaplandı. HIF-1α ng/mL, HIF-2α ng/mL, HIF-3α ng/L, VEGF ng/L olarak hesaplandı. Elde edilen verilerin hepsi pg/µL birimine çevrilerek kaydedildi.
13. Elde edilen sonuçlar DOS HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α, VEGF total miktarı olarak kabul edildi. Total miktarlar, DOS içerisindeki HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α, VEGF miktarlarını

(pg) gösterirken; HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α, VEGF konsantrasyonları (pg/μL) DOS'un 1 μL'sindeki miktarlarını belirtmektedir.

14. Kitlerin intra-assay ve inter-assay değerleri % 10 un altında olarak verildi.



Resim 3.3. a: ELISA yıkayıcısında mikroplak görünümü, b: Kuyucuklara substrat solüsyonu eklendikten sonra mikroplak görünümü, c: Kuyucuklara durdurma solüsyonu eklenirken mikroplak görünümü

3.8. İstatistiksel Yöntem

Çalışmada kullanılması öngörülen yöntemlerden biri olan "One Way ANOVA" testine göre yapılan güç analizleri sonucu, gerekli örneklem sayısı her bir grupta 18 birey olmak üzere toplamda en az 72 birey olarak belirlendi. Bu durumda testin gücü için beklenen değer % 81,976 olarak hesaplandı. Toplam birey sayısı 88 olduğunda testin gücünün % 89,854'tür.

Verilerin değerlendirilmesinde SPPS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) istatistik paket programı kullanıldı. Çalışmada kategorik ve sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler (ortalama, standart

sapma, ortanca değer, minimum, maksimum, sayı ve yüzdelik dilim) verildi. Ayrıca parametrik testlerin ön şartlarından varyansların homojenliği “Levene” testi ile kontrol edildi. Normallik varsayımına ise “Shapiro-Wilk” testi ile bakıldı. Gruplar arasındaki farklar değerlendirilmek istendiğinde parametrik test ön şartlarını sağladığı durumda “One Way ANOVA”; sağlamadığında ise “Kruskal-Wallis testi” kullanıldı. Korelasyon analizi değerlendirmesinde parametrik ön test şartı sağlanmadığından “Spearman Correlation” katsayısı uygulandı. $p<0,05$ için istatistiksel anlamlılık olduğu bildirildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Bulgular

Çalışmaya katılan periodontal sağlıklı, sigara içmeyen (Grup S) 22, periodontal sağlıklı, sigara içen (Grup SS) 22, periodontitise sahip, sigara içmeyen (Grup P) 22 ve periodontitise sahip, sigara içen (Grup PS) 22 bireye ait demografik bilgiler incelendi.

Yaş ortalaması S grubunda 32,09 ± 8,12, SS grubunda 29,77 ± 6,75, P grubunda 38,59 ± 9,26 ve PS grubunda 39,73 ± 8,99 olarak bulundu. Gruplar arasında yaş dağılımları açısından; S-P, S-PS, SS-P ve SS-PS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p<0,001). Sigara içme durumundan bağımsız olarak periodontitisli iki grubun da yaş ortalaması periodontal sağlıklı grupların her ikisinden de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p<0,001). Aynı periodontal durumlara sahip gruplar incelendiğinde, sigara içen ve içmeyen gruplar arasında yaş dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p>0,05) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Gönüllülerin yaş ortalamalarının çalışma gruplarına göre dağılımı

	S	SS	P	PS	p
Yaş (Yıl)	32,09 ± 8,12* [a]	29,77 ± 6,75 [a]	38,59 ± 9,26 [b]	39,73 ± 8,99 [b]	<0,001**

Her satırda a ve b harfleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Farklı harf ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak fark vardır.
* Ortalama ± standart sapma (Ort. ± SS); ** One Way ANOVA test (f); p<0,05.
S: Periodontal sağlıklı, sigara içmeyen grup, SS: Periodontal sağlıklı, sigara içen grup, P: Periodontitise sahip, sigara içmeyen grup, PS: Periodontitise sahip, sigara içen grup.

Cinsiyet dağılımları incelendiğinde; çalışmaya katılan toplam 88 bireyden 52'sinin kadın, 36'sının ise erkek olduğu belirlendi. Bireylerin cinsiyete göre gruplara dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p>0,05) (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Gönüllülerin cinsiyetlerinin çalışma gruplarına göre dağılımı

		S	SS	P	PS	Toplam	p
Cinsiyet	**Kadın**	15 (68,1)*	11 (50)	17 (77,3)	9 (40,9)	52 (59,1)	0,057**
	Erkek	7 (31,9)	11 (50)	5 (22,7)	13 (59,1)	36 (40,9)	

* Örnek sayısı (%), ** Ki-kare testi; p<0,05.

4.2. Klinik Bulgular

Günlük tüketilen sigara miktarı; SS grubunda 19,55±5,75 adet, PS grubunda ise 15,45±5,75 adet olarak belirlendi. Gruplar karşılaştırıldığında günlük tüketilen sigara miktarı; SS grubunda, PS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$) (Çizelge 4.3).

Sigara içilen yıl süresi; SS grubunda 11,50±5,99 yıl, PS grubunda ise 17,45±9,29 yıl olarak belirlendi. Gruplar karşılaştırıldığında sigara içilen yıl sayısı; PS grubunda, SS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Gönüllülerin günlük içilen sigara miktarlarının ve sigara içilen yıl sürelerinin çalışma gruplarına göre dağılımı

	S	SS	P	PS	p
Sigara (Günlük)	-	19,55±5,75* [a]	-	15,45±5,75 [b]	<0,001**
Sigara (Yıl)	-	11,50±5,99 [a]	-	17,45±9,29 [b]	<0,001

Her satırda a ve b harfleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Farklı harf ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak fark vardır.
* Ort. ± SS; ** Kruskal-Wallis test (χ^2); $p<0,05$.

Çalışmaya katılan bireylerin dişlerini fırçalama sıklıkları değerlendirildi. Hastalardan alınan yanıtlara göre gruplar oluşturuldu (Çizelge 4.4). S, SS ve P gruplarında dişlerini günde 1-2 defa fırçalayanların sayısı diğer fırçalama sıklıklarına kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek tespit edildi ($p<0,05$). PS grubunda dişlerini günde 1-2 defa fırçalayanların sayısı sadece bazen fırçaladığını bildirenlerin sayısına göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).

Çizelge 4.4. Gönüllülerin diş fırçalama sıklıklarının çalışma gruplarına göre dağılımı

	Bazen	Haftada 1-2	Günde 1-2	Günde 3-4
S	0 (0)* [a]	0 (0) [a]	20 (90,9) [b]	2 (9,1) [a]
SS	0 (0) [a]	1 (4,5) [a]	18 (81,9) [b]	3 (13,6) [a]
P	3 (13,6) [a]	3 (13,6) [a]	16 (72,8) [b]	0 (0) [a]
PS	7 (31,8) [a]	2 (9,1) [ab]	11 (50) [b]	2 (9,1) [ab]
Toplam	10 (11,4)	6 (6,8)	65 (73,9)	7 (7,9)

* Örnek sayısı (%); ** Ki-kare testi; $p<0,05$.

4.2.1. Tüm ağız klinik periodontal bulgular

Tüm ağız klinik periodontal bulgular incelendiğinde ve çalışma grupları arasında karşılaştırıldığında; değerlendirilen tüm klinik parametreler, sigara içme durumundan bağımsız olarak, periodontitis gruplarında periodontal sağlıklı gruplara kıyasla istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,001$). Periodontitise sahip gruplarda sadece Gİ ($p=0,04$) ve SK ($p<0,001$) parametreleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark gözlendi (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Tüm ağız klinik parametreleri

	S	**SS**	**P**	**PS**
Pİ	0,06±0,09* [a]	0,05±0,10 [a]	2,22±0,80 [b]	2,39±0,60 [b]
Gİ	0,002±0,013 [a]	0,001±0,005 [a]	2,29±0,68 [b]	1,97±0,75 [c]
SK (%)	0,16±0,54 [a]	0,12±0,42 [a]	87,53±26,92 [b]	52,79±39,71 [c]
CD (mm)	1,81±0,26 [a]	1,72±0,21 [a]	4,39±1,32 [b]	4,07±1,48 [b]
KAS (mm)	1,81±0,26 [a]	1,68±0,38 [a]	4,56±1,37 [b]	4,27±1,54 [b]

Her satırda a ve b harfleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Farklı harf ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.
* Ort. ± SS; Kruskal-Wallis test (χ^2); $p<0,05$.

4.2.2. Örnek bölgelerine ait klinik periodontal bulgular

Örnek bölgelerine ait klinik periodontal bulgular incelendiğinde ve çalışma grupları arasında karşılaştırıldığında; değerlendirilen tüm klinik parametreler, sigara içme durumundan bağımsız olarak, periodontitis gruplarında periodontal sağlıklı gruplara kıyasla istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,001$).

Gİ ($p=0,01$) ve SK ($p<0,001$) verileri; P grubunda PS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu.

DOS hacmi en yüksek P grubunda tespit edilirken, en düşük SS grubunda belirlendi, fakat gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Örnek bölgelerine ait klinik parametreler

	S	SS	P	PS
Pİ	0±0* [a]	0±0 [a]	2,23±0,92 [b]	2,27±0,76 [b]
Gİ	0±0 [a]	0±0 [a]	2,36±0,65 [b]	1,82±0,79 [c]
SK (%)	0±0 [a]	0±0 [a]	95,45±21,32 [b]	47,32±41,93 [c]
CD (mm)	1,89±0,47 [a]	1,90±0,56 [a]	7,74±2,25 [b]	6,78±2,29 [b]
KAS (mm)	1,89±0,47 [a]	1,90±0,56 [a]	7,80±2,51 [b]	7,09±2,47 [b]
DOS Hacmi (µL)	1,64±1,22 [a]	1,15±1,05 [a]	1,69±0,89 [a]	1,23±0,94 [a]

Her satırda a ve b harfleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Farklı harf ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

* Ort. ± SS; Kruskal-Wallis test (χ^2); $p<0,05$.

4.3. Laboratuvar Bulguları

4.3.1. Dişeti oluğu sıvısı HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF düzeyleri

Çalışma gruplarına ait ELISA incelemeleri sonucu elde edilen DOS HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF sonuçlar kitlerin hassasiyet sınırları içerisinde yer almaktadır. Biyobelirteçlere ait sonuçlar hem total hem konsantrasyon değerleri olarak hesaplandı ve gruplar arasında karşılaştırıldı.

DOS HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF total düzeyleri

Gruplar arası total belirteç seviyeleri ilişkisi incelendiğinde; tüm total belirteç değerleri için istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu (Çizelge 4.7).

DOS HIF-1α total verileri değerlendirildiğinde; S grubuna kıyasla SS ($p=0,001$), P ($p=0,005$) ve PS ($p=0,007$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek DOS HIF-1α total değerleri tespit edildi. SS, P ve PS grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

DOS HIF-2α total verileri değerlendirildiğinde; S grubuna kıyasla, SS ($p<0,001$) ve P ($p=0,007$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek DOS HIF-2α total değeri tespit edildi. PS grubunda, S grubuna kıyasla daha yüksek DOS HIF-2α total değerleri tespit edilmesine karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

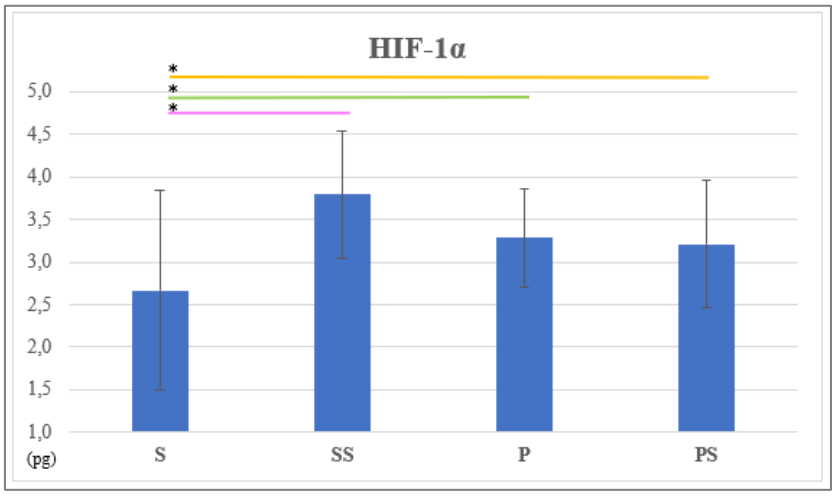
DOS HIF-3α total verileri değerlendirildiğinde; S grubuna kıyasla SS (p=0,029), P (p=0,008) ve PS (p<0,001) gruplarının her üçünde de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek DOS HIF-3α total değerleri tespit edildi.

DOS VEGF total verileri değerlendirildiğinde; S grubuna kıyasla, SS (p=0,002), P (p=0,001) ve PS (p<0,001) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bir farklılık olduğu tespit edildi. PS grubunda SS ve P gruplarına kıyasla daha yüksek DOS VEGF total seviyeleri tespit edildi, fakat aradaki fark istatistiksel olarak bulunmadı (p>0,05).

Çizelge 4.7. DOS HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF total düzeyleri

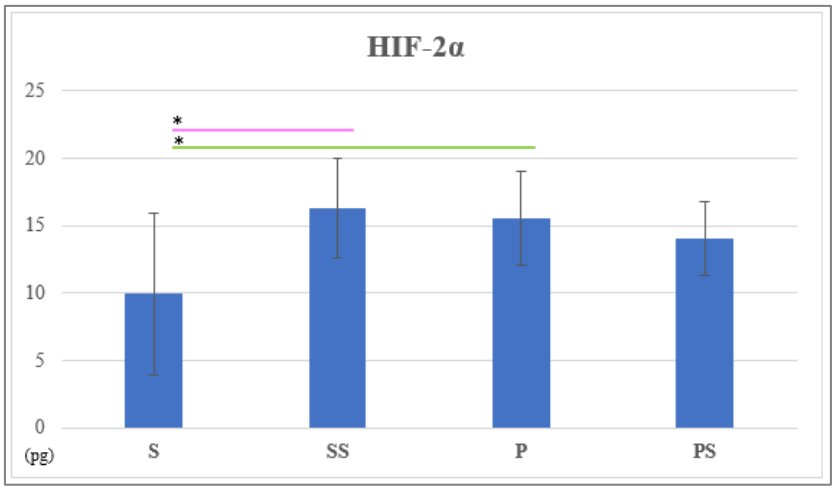
	S	**SS**	**P**	**PS**
HIF-1α (pg)	2,667±1,176* [a]	3,794±0,742 [b]	3,288±0,576 [b]	3,207±0,749 [b]
HIF-2α (pg)	9,95±6,039 [a]	16,316±3,74 [b]	15,555±3,487 [b]	14,034±2,731 [ab]
HIF-3α (pg)	0,097±0,028 [a]	0,116±0,02 [b]	0,119±0,02 [b]	0,12±0,018 [b]
VEGF (pg)	0,031±0,016 [a]	0,052±0,012 [b]	0,054±0,014 [b]	0,061±0,012 [b]

Her satırda a ve b harfleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Farklı harf ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.
*Ort. ± SS; One Way ANOVA test (f); p<0,05.



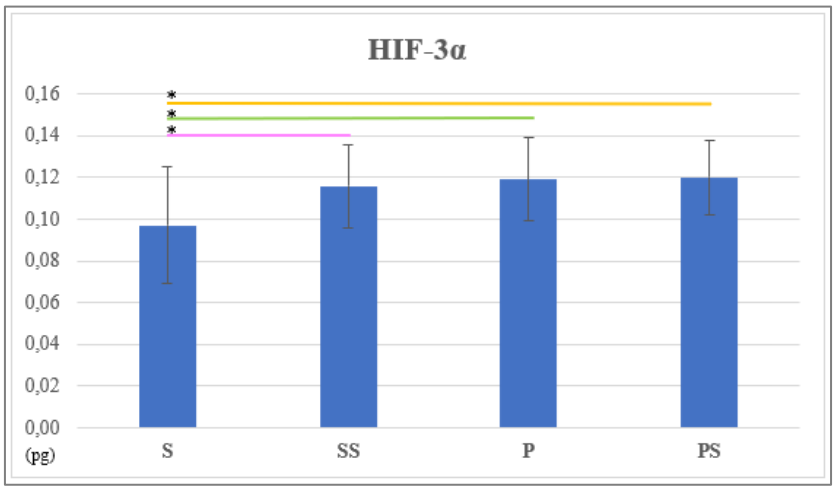
Ort. ± SS; One Way ANOVA test (f); *p<0,05.

Şekil 4.1. DOS HIF-1α total düzeyleri



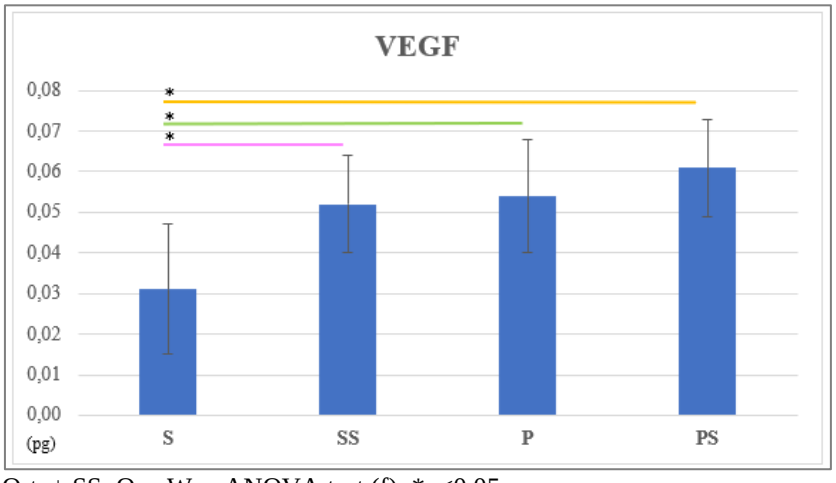
Ort. ± SS; One Way ANOVA test (f); *p<0,05.

Şekil 4.2. DOS HIF-2α total düzeyleri



Ort. ± SS; One Way ANOVA test (f); *p<0,05.

Şekil 4.3. DOS HIF-3α total düzeyleri



Ort. ± SS; One Way ANOVA test (f); *p<0,05.

Şekil 4.4. DOS VEGF total düzeyleri

DOS HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF konsantrasyonları

Gruplar arası konsantrasyon belirteç seviyeleri ilişkisi incelendiğinde; HIF-1α, HIF-2α ve VEGF belirteçleri için istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken, HIF-3α belirteci için istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Çizelge 4.8).

DOS HIF-1α konsantrasyon verileri değerlendirildiğinde; S grubuna kıyasla, SS (p=0,043) ve PS (p=0,047) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek DOS HIF-1α konsantrasyon tespit edildi. P grubunda S grubuna kıyasla yüksek seviyede DOS HIF-1α konsantrasyonu tespit edilmesine karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05).

DOS HIF-2α konsantrasyon verileri değerlendirildiğinde; S grubuna kıyasla, SS (p=0,013) grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek DOS HIF-2α konsantrasyon tespit edildi. P ve PS gruplarında S grubuna göre yüksek seviyede DOS HIF-2α konsantrasyonu tespit edilmesine karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05).

DOS HIF-3α konsantrasyon verileri değerlendirildiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p>0,05).

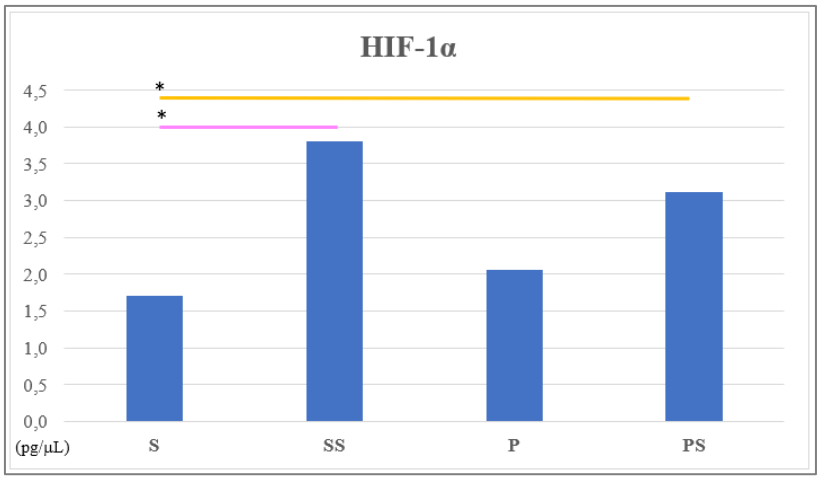
DOS VEGF konsantrasyon verileri değerlendirildiğinde; S grubuna kıyasla, SS (p=0,012) ve PS (p=0,01) gruplarında istatistiksel anlamlı derecede yüksek DOS VEGF konsantrasyon seviyeleri saptandı. P grubunda S grubuna kıyasla yüksek DOS VEGF konsantrasyonu bulunmasına karşın, istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (p>0,05).

Çizelge 4.8. DOS HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF konsantrasyonları

	S	**SS**	**P**	**PS**
HIF-1α (pg/µL)	1,699 (4,393)* [a]	3,81 (30,282) [b]	2,059 (1,456) [ab]	3,115 (12,861) [b]
HIF-2α (pg/µL)	6,517 (16,702) [a]	15,136 (153,885) [b]	8,983 (7,142) [ab]	11,56 (63,183) [ab]
HIF-3α (pg/µL)	0,055 (0,373) [a]	0,11 (1,081) [a]	0,071 (0,076) [a]	0,098 (0,71) [a]
VEGF (pg/µL)	0,017 (0,086) [a]	0,056 (0,369) [b]	0,028 (0,038) [ab]	0,049 (0,317) [b]

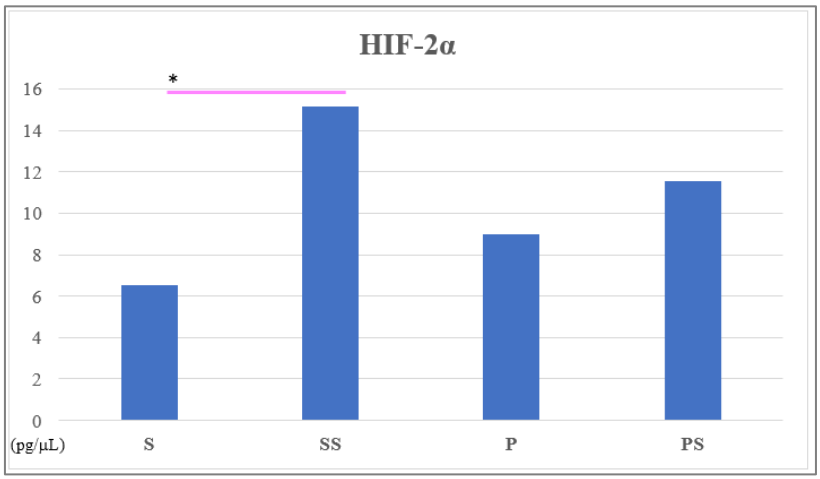
Her satırda a ve b harfleri gruplar arası farklılıkları göstermektedir. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Farklı harf ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

* Medyan değer (M) ve çeyreklikler arası açıklık (IQR); Kruskal-Wallis test (χ^2); p<0,05.



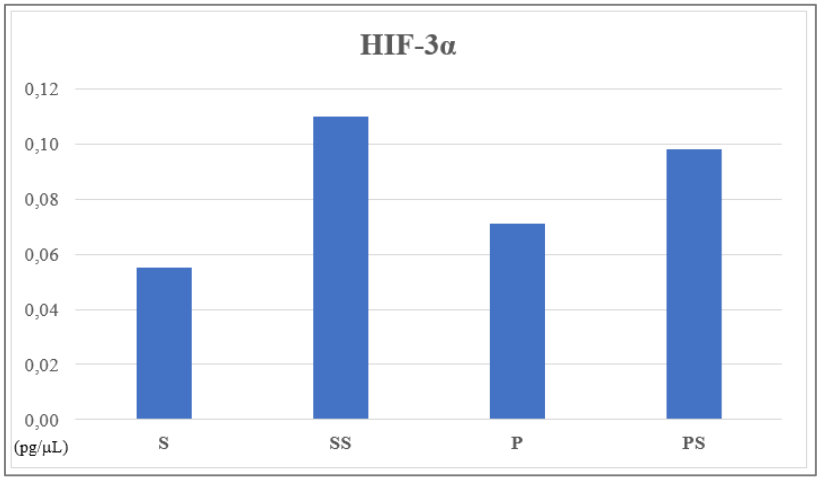
Medyan değer (M); Kruskal-Wallis test (χ^2); *p<0,05.

Şekil 4.5. DOS HIF-1α konsantrasyon düzeyleri



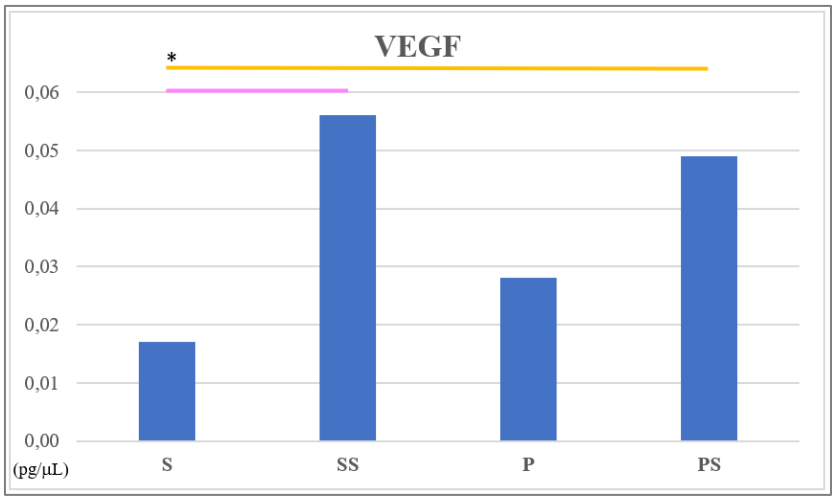
Medyan değer (M); Kruskal-Wallis test (χ^2); *p<0,05.

Şekil 4.6. DOS HIF-2α konsantrasyon düzeyleri



Medyan değer (M); Kruskal-Wallis test (χ^2); *p<0,05.

Şekil 4.7. DOS HIF-3α konsantrasyon düzeyleri



Medyan değer (M); Kruskal-Wallis test (χ^2); *p<0,05.

Şekil 4.8. DOS VEGF konsantrasyon düzeyleri

4.4. Periodontal Klinik Verilerin ve Laboratuvar Verilerinin Korelasyon Analizleri

Çalışmamızda yer alan S, SS, P ve PS gruplarına ait; örnek bölgesi klinik verileri (Pİ, Gİ, SK, CD, KAS) ile DOS total ve konsantrasyon HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α, VEGF laboratuvar verileri Spearman's rho korelasyon analizi kullanılarak incelendi.

4.4.1. Periodontal sağlıklı, sigara içmeyen gruba (Grup S) ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi

S grubuna (n=22) ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin Spearman rho korelasyon analizleri Çizelge 4.9'da gösterildi.

S grubu örnek bölgesi klinik parametreleri değerlendirildiğinde;

- Bölgesel CD ile bölgesel KAS verileri arasında pozitif yönde bir korelasyon bulundu (p<0,01).

S grubu DOS konsantrasyon (K) verileri değerlendirildiğinde;

- VEGF konsantrasyon ile HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında (p<0,01),
- HIF-1α konsantrasyon ile HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında (p<0,01),

- HIF-2α konsantrasyon ile HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$) pozitif yönde bir korelasyon bulundu.

Çizelge 4.9. Periodontal sağlıklı, sigara içmeyen gruba (Grup S) ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

			CD (B)	KAS (B)	VEGF (T)	HIF-1α (T)	HIF-2α (T)	HIF-3α (T)	VEGF (K)	HIF-1α (K)	HIF-2α (K)	HIF-3α (K)
	KAS (B)	r	1,000**									
	VEGF (T)	r	-0,093	-0,093								
	HIF-1α (T)	r	-0,221	-0,221	-0,201							
	HIF-2α (T)	r	0,050	0,050	0,159	-0,049						
	HIF-3α (T)	r	-0,337	-0,337	0,352	0,143	-0,166					
	VEGF (K)	r	-0,138	-0,138	0,029	-0,029	0,182	0,015				
	HIF-1α (K)	r	-0,089	-0,089	-0,122	-0,054	0,093	-0,043	,974**			
	HIF-2α (K)	r	-0,075	-0,075	-0,112	-0,127	0,222	-0,099	,954**	,955**		
	HIF-3α (K)	r	-0,068	-0,068	-0,148	-0,124	0,056	-0,035	,950**	,993**	,952**	

B: Bölg esel, T: Total, K: Konsantrasyon, *: p<0,05, **: p<0,01, r: Spearman’s rho korelasyon.

4.4.2. Periodontal sağlıklı, sigara içen gruba (Grup SS) ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi

SS grubuna ait (n=22) bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin Spearman rho korelasyon analizleri Çizelge 4.10'da gösterildi.

SS grubu klinik verileri değerlendirildiğinde;

- Sigara içilen yıl sayısı ile VEGF, HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında negatif yönde bir korelasyon bulundu ($p<0,05$).

SS grubu örnek bölgesi klinik parametreleri değerlendirildiğinde;

- Bölgesel CD ile bölgesel KAS verileri arasında pozitif yönde bir korelasyon bulundu ($p<0,01$).

SS grubu DOS total (T) ve konsantrasyon (K) verileri değerlendirildiğinde;

- HIF-2α total ile HIF-2α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,05$),
- VEGF konsantrasyon ile HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-1α konsantrasyon ile HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-2α konsantrasyon ile HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$) pozitif yönde bir korelasyon bulundu.

Çizelge 4.10. Periodontal sağlıklı, sigara içen gruba (Grup SS) ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

			Sigara (Günlük)	Sigara (Yıl)	CD (B)	KAS (B)	VEGF (T)	HIF-1α (T)	HIF-2α (T)	HIF-3α (T)	VEGF (K)	HIF-1α (K)	HIF-2α (K)	HIF-3α (K)
	Sigara (Yıl)	r	0,069											
	CD (B)	r	-0,161	-0,031										
	KAS (B)	r	-0,161	-0,031	1,000**									
	VEGF (T)	r	-0,149	0,079	0,174	0,174								
	HIF-1α (T)	r	-0,124	-0,119	0,026	0,026	0,102							
	HIF-2α (T)	r	0,011	-0,284	0,198	0,198	-0,006	-0,212						
	HIF-3α (T)	r	0,120	0,007	0,140	0,140	0,297	-0,195	-0,040					
	VEGF (K)	r	0,289	-,462*	-0,227	-0,227	-0,018	0,043	0,344	-0,133				
	HIF-1α (K)	r	0,202	-,485*	-0,230	-0,230	-0,256	0,288	0,292	-0,125	,892**			
	HIF-2α (K)	r	0,236	-,481*	-0,142	-0,142	-0,213	0,049	,466*	-0,173	,931**	,920**		
	HIF-3α (K)	r	0,311	-,458*	-0,204	-0,204	-0,217	0,118	0,325	-0,115	,950**	,971**	,963**	

B: Bölgesel, T: Total, K: Konsantrasyon, *: p<0,05, **: p<0,01, r: Spearman's rho korelasyon.

4.4.3. Periodontitise sahip, sigara içmeyen gruba (Grup P) ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi

P grubuna ait (n=22) bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin Spearman rho korelasyon analizleri Çizelge 4.11'de gösterildi.

P grubu örnek bölgesi klinik parametreleri değerlendirildiğinde;

- Bölgesel Pİ ile bölgesel Gİ verileri arasında ($p<0,01$),
- Bölgesel Gİ ile bölgesel SK verileri arasında ($p<0,05$),
- Bölgesel CD ile bölgesel KAS verileri arasında ($p<0,01$) pozitif yönde bir korelasyon bulundu.

P grubu örnek bölgesi klinik parametreleri ile DOS total (T) ve konsantrasyon (K) verileri değerlendirildiğinde;

- Bölgesel Gİ ile VEGF ve HIF-1α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$),
- Bölgesel Gİ ile HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,05$),
- Bölgesel SK ile VEGF total verileri arasında ($p<0,05$),
- Bölgesel SK ile VEGF ve HIF-1α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$) negatif yönde bir korelasyon bulundu.

P grubu DOS total (T) ve konsantrasyon (K) verileri değerlendirildiğinde;

- VEGF total ile HIF-2α, HIF-3α total ve VEGF konsantrasyon verileri arasında ($p<0,05$),
- HIF-1α total ile VEGF, HIF-2α ve HIF-3α total verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-1α total ile HIF-1α ve HIF-2α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,05$),
- HIF-3α total ile VEGF ve HIF-2α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,05$),
- HIF-3α total ile HIF-1α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$),
- VEGF konsantrasyon ile HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-1α konsantrasyon ile HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-2α konsantrasyon ile HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$) pozitif yönde bir korelasyon bulundu.

Çizelge 4.11. Periodontitise sahip, sigara içmeyen gruba (Grup P) ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

			Pİ (B)	Gİ (B)	SK (B)	CD (B)	KAS (B)	VEGF (T)	HIF-1α (T)	HIF-2α (T)	HIF-3α (T)	VEGF (K)	HIF-1α (K)	HIF-2α (K)	HIF-3α (K)
	Gİ (B)	r	,642**												
	SK (B)	r	0,297	,463*											
	CD (B)	r	-0,061	-0,151	0,272										
	KAS (B)	r	0,097	0,073	0,250	,925**									
	VEGF (T)	r	-0,176	0,017	-,486*	-0,213	-0,160								
	HIF-1α (T)	r	-0,065	-0,109	-0,362	-0,319	-0,223	,542**							
	HIF-2α (T)	r	0,031	0,202	0,023	0,017	0,124	,473*	,594**						
	HIF-3α (T)	r	-0,210	-0,227	-0,214	0,055	0,005	,525*	,564**	0,330					
	VEGF (K)	r	-0,292	-,616**	-,728**	-0,177	-0,284	,431*	0,338	-0,138	,503*				
	HIF-1α (K)	r	-0,191	-,580**	-,575**	0,009	-0,061	0,279	,454*	-0,035	,549**	,892**			
	HIF-2α (K)	r	-0,039	-,444*	-0,391	0,036	-0,024	0,192	,446*	0,121	,436*	,730**	,916**		
	HIF-3α (K)	r	-0,180	-,521*	-0,391	0,033	-0,069	0,196	0,271	-0,190	,594**	,875**	,921**	,785**	

B: Bölgesel, T: Total, K: Konsantrasyon, *: p<0,05, **: p<0,01, r: Spearman’s rho korelasyon.

4.4.4. Periodontitise sahip, sigara içen gruba (Grup PS) ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi

PS grubuna ait (n=22) bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin Spearman rho korelasyon analizleri Çizelge 4.12'de gösterildi.

PS grubu klinik verileri değerlendirildiğinde;

- Günlük içilen sigara miktarı ile bölgesel SK verileri arasında ($p<0,05$),
- Sigara içilen yıl sayısı ile bölgesel SK verileri arasında ($p<0,05$) negatif yönde bir korelasyon bulundu.
- Sigara içilen yıl sayısı ile HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,05$) pozitif yönde bir korelasyon bulundu.

PS grubu örnek bölgesi klinik parametreleri değerlendirildiğinde;

- Bölgesel Gİ ile bölgesel SK verileri arasında ($p<0,01$),
- Bölgesel CD ile bölgesel KAS verileri arasında ($p<0,01$) pozitif yönde bir korelasyon bulundu.

PS grubu örnek bölgesi klinik parametreleri ile DOS total (T) ve konsantrasyon (K) verileri değerlendirildiğinde;

- Bölgesel Gİ ile VEGF, HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$) negatif yönde bir korelasyon bulundu.

PS grubu DOS total (T) ve konsantrasyon (K) verileri değerlendirildiğinde;

- HIF-1α total ile HIF-2α total verileri arasında ($p<0,05$),
- VEGF konsantrasyon ile HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-1α konsantrasyon ile HIF-2α ve HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-2α konsantrasyon ile HIF-3α konsantrasyon verileri arasında ($p<0,01$) pozitif yönde bir ilişki bulundu.

Çizelge 4.12. Periodontitise sahip, sigara içen gruba (Grup PS) ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizleri

		Sigara (Günlük)	Sigara (Yıl)	Pİ (B)	Gİ (B)	SK (B)	CD (B)	KAS (B)	VEGF (T)	HIF-1α (T)	HIF-2α (T)	HIF-3α (T)	VEGF (K)	HIF-1α (K)	HIF-2α (K)	HIF-3α (K)
Sigara (Yıl)	r	0,410														
Pİ (B)	r	0,402	0,089													
Gİ (B)	r	-0,293	-0,362	0,241												
SK (B)	r	-,475*	-,527*	-0,067	,662**											
CD (B)	r	-0,362	-0,004	-0,092	0,309	0,317										
KAS (B)	r	-0,278	0,041	-0,063	0,243	0,239	,986**									
VEGF (T)	r	-0,335	-0,128	-0,224	0,153	0,086	0,294	0,301								
HIF-1α (T)	r	0,079	-0,176	-0,113	0,122	-0,058	-0,164	-0,139	0,093							
HIF-2α (T)	r	0,117	0,069	-0,372	-0,253	-0,263	-0,160	-0,169	-0,034	,484*						
HIF-3α (T)	r	0,056	0,158	-0,389	-0,314	0,011	0,245	0,230	0,199	-0,062	0,258					
VEGF (K)	r	0,060	0,405	-0,375	-,624**	-0,383	-0,380	-0,370	0,040	-0,273	0,081	0,233				
HIF-1α (K)	r	0,039	,431*	-0,381	-,637**	-0,408	-0,376	-0,354	-0,126	-0,189	0,076	0,137	,946**			
HIF-2α (K)	r	0,080	,448*	-0,393	-,629**	-0,408	-0,382	-0,363	-0,065	-0,229	0,161	0,152	,975**	,978**		
HIF-3α (K)	r	0,043	,434*	-0,373	-,639**	-0,360	-0,358	-0,343	-0,071	-0,284	0,018	0,273	,973**	,961**	,955**	

B: Bölgesel, T: Total, K: Konsantrasyon, *: p<0,05, **: p<0,01, r: Spearman's rho korelasyon

4.4.5. Tüm gruplara ait bölgesel klinik periodontal verileri ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi

Tüm gruplara ait (n=88) bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin Spearman rho korelasyon analizleri Çizelge 4.13'te gösterildi.

Tüm gruplara ait klinik veriler değerlendirildiğinde;

- Günlük içilen sigara miktarı ile sigara içilen yıl sayısı arasında ($p<0,01$),
- Günlük içilen sigara miktarı ile VEGF (T), HIF-1α (T), HIF-2α (K) verileri arasında ($p<0,01$),
- Günlük içilen sigara miktarı ile HIF-2α (T), HIF-3α (T), VEGF (K), HIF-1α (K) verileri arasında ($p<0,05$),
- Sigara içilen yıl sayısı ile VEGF (T), HIF-3α (T) verileri arasında ($p<0,01$),
- Sigara içilen yıl sayısı ile VEGF (K) verileri arasında ($p<0,05$),
- Bölgesel Pİ ile bölgesel Gİ, bölgesel SK, bölgesel CD, bölgesel KAS verileri arasında ($p<0,01$),
- Bölgesel Gİ ile bölgesel SK, bölgesel CD, bölgesel KAS verileri arasında ($p<0,01$),
- Bölgesel SK ile bölgesel CD, bölgesel KAS verileri arasında ($p<0,01$),
- Bölgesel CD ile bölgesel KAS verileri arasında ($p<0,01$) pozitif yönde bir korelasyon bulundu.
- Günlük içilen sigara miktarı ile bölgesel Gİ ve bölgesel SK verileri arasında ($p<0,05$) negatif yönde bir korelasyon bulundu.

Tüm gruplara ait DOS total (T) ve konsantrasyon (K) verileri değerlendirildiğinde;

- VEGF (T) ile HIF-1α (T), HIF-2α (T), HIF-3α (T) verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-1α (T) ile HIF-2α (T), HIF-3α (T) verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-1α (T) ile HIF-1α (K) verileri arasında ($p<0,05$),
- HIF-2α (T) ile HIF-3α (T), HIF-2α (K) verileri arasında ($p<0,01$),
- VEGF (K) ile HIF-1α (K), HIF-2α (K), HIF-3α (K) verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-1α (K) ile HIF-2α (K), HIF-3α (K) verileri arasında ($p<0,01$),
- HIF-2α (K) ile HIF-3α (K) arasında ($p<0,01$) pozitif yönde bir korelasyon bulundu.

Çizelge 4.13. Tüm gruplara ait bölgesel klinik periodontal parametreler ve laboratuvar verilerinin korelasyon analizi

			Sigara (Günlük)	Sigara (Yıl)	Pİ (B)	Gİ (B)	SK (B)	CD (B)	KAS (B)	VEGF (T)	HIF-1α (T)	HIF-2α (T)	HIF-3α (T)	VEGF (K)	HIF-1α (K)	HIF-2α (K)
	Sigara (Yıl)	r	,733**													
	Pİ (B)	r	-0,052	0,164												
	Gİ (B)	r	-,214*	-0,025	,872**											
	SK (B)	r	-,272*	-0,121	,764**	,911**										
	CD (B)	r	-0,191	0,064	,737**	,797**	,815**									
	KAS (B)	r	-0,165	0,091	,752**	,798**	,789**	,988**								
	VEGF (T)	r	,311**	,344**	-,244	-,278	-,355	-,251	-,223							
	HIF-1α (T)	r	,286**	0,122	-,318	-,330	-,386	-,401	-,371	,354**						
	HIF-2α (T)	r	,264*	0,135	-,387	-,406	-,445	-,389	-,352	,422**	,458**					
	HIF-3α (T)	r	,251*	,290**	-0,172	-,240	-,211	-0,099	-0,095	,542**	,296**	,287**				
	VEGF (K)	r	,266*	,210*	-0,103	-,211	-0,192	-0,133	-0,146	0,179	0,098	0,130	0,199			
	HIF-1α (K)	r	,218*	0,094	-0,122	-,211	-0,180	-0,110	-0,120	-0,002	,244*	0,119	0,144	,893**		
	HIF-2α (K)	r	,287**	0,157	-0,160	-,257	-,234	-0,182	-0,182	0,049	0,148	,293**	0,097	,899**	,911**	
	HIF-3α (K)	r	0,191	0,162	-0,046	-0,154	-0,099	-0,036	-0,053	-0,001	0,063	0,016	,219*	,930**	,933**	,874**

B: Bölgesel, T: Total, K: Konsantrasyon, *: p<0,05, **: p<0,01, r: Spirman's rho korelasyon.

5. TARTIŞMA

HIF-1α'nın insan periodontal dokularındaki ekspresyonu hakkında çeşitli çalışmalar mevcut olmasına karşın [23, 24, 213, 214]; literatür bilgileri dahilinde HIF-2α ve HIF-3α'nın periodontal hastalıklardaki ekspresyonuna yönelik çalışma olmadığı göze çarpmıştır.

HIF-1α aktivasyonunun hipoksik koşullar, enflamasyon ve periodontal hastalıklar ile ilişkisi çeşitli yöntemler ve çalışmalar ile incelenmiştir. Yu XJ. ve ark.'ı (2015) normoksik koşullar altında inkübe edilen periodontal ligament hücrelerinin HIF-1α ekspresyonu göstermediğini, hipoksik koşullarda inkübe edilen hücrelerin ise HIF-1α çekirdek ekspresyonu gösterdiğini tespit etmişlerdir [110]. Ayrıca hipoksinin insan periodontal ligament hücrelerinde HIF-lα ekspresyonunu düzenleyerek kemik rezorpsiyonunda önemli bir patolojik olay oluşturan RANKL ve OPG ekspresyonunu etkileyebildiğini ve periodontal dokulardaki oksijen eksikliğinin periodontitis gelişimini hızlandırabileceğini ileri sürmüşlerdir [110]. Takedachi ve ark.'nın (2017) çalışma sonuçları *P. gingivalis* ile enfekte gingival epitel hücrelerinin düşük oksijen gerilimine sahip olduğunu ve bu hipoksik durumun lokal enflamatuar yanıtının HIF-1α ile ilişkili modüle edildiğini göstermiştir [163]. Xu ve ark. (2019) periodontal ligament kök hücrelerinde HIF-1α, VEGF ve RUNX-2 ekspresyonunun, kontrol grubuna kıyasla hipoksik stimülasyon (%3 O_2) ile anlamlı derecede indüklendiğini bildirmişlerdir ($p<0.05$) [222]. Çalışmanın sonuçları, hipoksinin periodontal ligament kök hücrelerinde HIF-1α ile indüklenen VEGF yoluyla RUNX-2 ekspresyonunu düzenlediğini ortaya koymuştur [222].

Cheng ve ark. (2017) *E. coli* LPS'nin rat deneysel periodontitis modelinde normoksik fazı hipoksi fazına dönüştürdüğünü ve sağlıklı dişeti dokusunun HIF-lα negatif normoksik koşullar sergilediğini, periodontitisli bölgelerden alınan dişeti dokularının ise HIF-lα pozitif immün boyama gösterdiğini ortaya koymuşlardır [161]. Sağlam ve ark. (2020) sistemik ve topikal ozon uygulamalarının ratlardaki periodontitis modelleri üzerindeki etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında uygulama sonrası 15. günde HIF-1α pozitif hücrelerin kontrol grubuna kıyasla hem topikal ozon hem de sistemik ozon grubunda düşük bulunduğunu; fakat sadece topikal ozon grubundaki düşüklüğün anlamlı olduğunu bildirmişlerdir [229]. Bu bulgular bize HIF-1α seviyelerindeki değişikliklerin doğrudan oksijen seviyelerindeki değişikliklerden etkilendiğini düşündürmüştür.

Ng. ve ark.'nın (2011) çalışma sonuçları, HIF-1α, VEGF ve TNF-α protein ekspresyon seviyelerinin periodontal sağlıklı gruba kıyasla periodontitise sahip hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunduğunu bildiren ilk çalışmadır ($p<0.01$) [23]. HIF-1α mRNA seviyelerinin ise sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek bulunmasına rağmen farkın istatistiksel anlamlı olmadığı belirtilmiştir. TNF-α ve VEGF mRNA seviyeleri ise periodontitise sahip hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Özellikle, fibroblast benzeri hücrelerde HIF-1α proteininin artan ekspresyonu ve kronik periodontitisli hastalardan alınan gingival biyopsilerde enflamatuar hücrelerin infiltrasyonu, HIF-1α yolunun periodontal enflamatuar yanıtların kontrolünde rol oynadığını düşündürmektedir. HIF-lα ekspresyonu transkripsiyonel veya post-translasyonel mekanizmalarının ikisi ile birlikte düzenlense de; post-translasyonel olayların periodontal ceplerde artan HIF-1α protein ekspresyonunun ana nedeni olduğu ileri sürülmüştür [23].

Shi ve ark. (2015) tarafından orta derece ve ilerlemiş kronik periodontitise sahip hastaların gingival doku örneklerinde HIF-1α protein ekspresyonunun, periodontal sağlıklı gruba kıyasla anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir [213]. Vasconcelos ve ark. (2016) periodontitis ve gingivitis gruplarının gingival doku örneklerinde periodontal sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak yüksek HIF-lα ve VEGF seviyeleri tespit ettiklerini; periodontitis ve gingivitis grupları arasında anlamlı bir farklılık bulamadıklarını bildirmişlerdir [24]. Taşkan ve ark.'nın (2019) periodontal hastalığın (Evre 3) farklı derecelerine (Derece B-C) sahip hastaların sağlıklı ve hastalıklı bölgelerinden aldıkları dişeti dokularını inceledikleri çalışmalarında ise HIF-1α seviyeleri en düşük Evre 3 derece C periodontitis hastalarının hastalıklı bölgelerinden alınan biyopsi örneklerinde tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ayrıca VEGF ekspresyonları sağlıklı gruplarda daha yüksek ve periodontitisli gruplarda daha düşük bir patern sergilemiştir ($p<0.05$) [230].

Arajuo ve ark.'nın (2017) çalışması peri-implant dokularda HIF-1α ekspresyonlarını değerlendiren ilk çalışmadır [218]. Peri-implantitise sahip hastalar ve peri-implant sağlıklı kontrollerden mukozal biyopsi örnekleri aldıkları çalışmalarında immünohistokimyasal incelemelerde, peri-implantitis grubunun HIF-1α için artan immün boyama gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu biyobelirteçteki anlamlı artış sonucunda hipoksinin hastalık patogenezine aktif katılım gösterdiğini ileri sürmüşlerdir [218]. Karataş ve ark. (2019) peri-implant mukozitis ve peri-implantitiste hipoksi ile ilgili doku değişikliklerini araştırmışlardır [231]. Çalışmanın sonuçlarına göre hipoksinin periodontal sağlıklı bireylerde azalma

eğiliminde olduğu ve sağlıklı bireylerin HIF-lα seviyelerinin diğer gruplardan anlamlı olarak daha düşük gözlendiği bildirilmiştir. Peri-implant mukozitis grubunda periodontal sağlıklı gruba kıyasla daha yüksek HIF-lα seviyeleri saptandığı, periodontitis ve peri-implantitis gruplarına göre ise daha düşük HIF-lα seviyeleri gözlendiği bildirilmiştir ($p<0.05$) [231].

Sigaranın periodontal dokularda neden olduğu hipoksik değişikliklerin tespiti için HIF-1α seviyelerindeki değişikliklerin doku biyopsilerinde incelendiği [25] fakat lokal eksuda olan DOS içerisinde incelenmediği de göze çarpmıştır. Karataş ve ark. (2019) sigaranın periodontitisli ve sağlıklı bireylerde meydana getirdiği hipoksik ve apoptotik değişiklikleri doku biyopsilerinde değerlendirmişlerdir [25]. Çalışmanın sonuçlarına göre enflamatuar hücre sayıları sigara içen periodontitisli bireylerde diğer tüm gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. En düşük enflamatuar hücre sayısına sahip grup sigara içmeyen sağlıklı bireyler olarak belirtilmiştir. HIF-1α düzeyleri sigara içen sağlıklı bireyler ve periodontitisli bireylerde benzer olup, sigara içmeyen her iki gruba kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. VEGF düzeyleri açısından sigara içen ve içmeyen gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir [25].

Hipoksi ile indüklenen faktör ailesine (HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α) ait belirteçlerin periodontal hastalıklar ile ilişkisini DOS'ta inceleyen mevcut çalışmaların [25-27] sadece HIF-1α seviyelerinde meydana gelen değişiklikler üzerinde yoğunlaştığı dikkat çekmektedir. Periodontal enflamasyon varlığında artan DOS HIF-1α seviyelerinin tespiti [26-28], HIF-2α ve HIF-3α belirteçlerinin de periodontal enflamasyon sürecinde rol alabileceğini düşündürmüştür. Bu verilerden yola çıkarak araştırmamızda, DOS içerisinde hem periodontitisin hem de sigaranın HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF seviyeleri üzerinde meydana getirdiği değişiklikleri değerlendirmek amaçlanmıştır. Bilgilerimiz dahilinde, bu çalışma DOS'ta HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α seviyelerini inceleyerek periodontal hastalık ve sağlıkta sigaranın etkilerini de değerlendiren ilk çalışmadır.

DOS; dişeti oluğundan toplanabilen, içerisinde enzimler, doku yıkım ürünleri, sitokinler yer alan lokal enflamatuar bir eksüdadır [255]. DOS oral bölgede aynı anda birden fazla bölgeden numune alınmasına izin vermesi nedeniyle yaygın olarak tercih edilen oral tanı materyalidir [81]. Literatürde DOS'taki biyobelirteçleri inceleyen çalışmalarda biyobelirteçlerin hem DOS toplam miktarı hem de DOS konsantrasyon miktarının incelendiği görülmüştür [26, 28]. Fakat DOS konsantrasyonunun doğrudan DOS hacminden

etkilenmesinden dolayı gerçek değişimi yansıtamayabileceği, bunun yerine standart örnekleme süresi ile toplam miktarların karşılaştırılmasının daha uygun olabileceği ileri sürülmüştür [256]. Çalışmamızda sonuçlar her iki veriye de yer vererek değerlendirilmiştir.

DOS'ta bulunan belirteç seviyelerinin incelenmesi için; enzime bağlı immünosorbent analizi (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay, ELISA) [257], polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) [258], zamana bağlı immünoflorometrik analiz (Time-Resolved Immuno Fluorometric Assay, TR-IFMA) [259], çoklu boncuklu immünotest (Multiplexed Bead Immunoassay, MPBI) [260], yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPCL) [261] ve flow sitometri [262] yöntemleri kullanılmaktadır. Çalışmamızda, literatürde benzer amaçlı çalışmalarda sıklıkla tercih edilmesi [26-28, 233], pratik olması ve ayrıca maliyet açısından da uygun olması sebebi ile ELISA yöntemi kullanılmıştır. ELISA yöntemi antijen ve antikor ilişkisini ve antikora bağlanabilen bir enzimin aktivitesini değerlendirmek için kullanılabilen kantitatif bir yöntemdir [263].

Çalışmaya katılan bireylere diş fırçalama sıklıkları sorulmuş ve kaydedilmiştir. Periodontitise sahip grupların (P ve PS), periodontal sağlıklı gruplara kıyasla (S ve SS) daha düşük oral hijyen alışkanlıklarına sahip olduğu görülmüştür. Diş fırçalama sıklığı PS grubunda en düşük bulunmuştur, bu durumun oral hijyen alışkanlıklarını başarı ile sağlayamayan bireylerde, mikrobiyal dental plak miktarındaki artışa bağlı olarak, periodontal hastalığın gelişme riskinin artmasından kaynaklı gerçekleştiğini düşünmekteyiz. Verilerimiz aynı zamanda, sigara kullanan bireylerde düşük oral hijyen alışkanlıkları görülebildiğini gösteren veriler ile uyumludur [264].

Çalışma gruplarımızdaki bireylerin cinsiyet dağılımı incelendiğinde; sigara içmeyen gruplarda kadınların sayısının erkeklere kıyasla daha fazla olduğu göze çarpmaktadır. Yücesoy ve ark.'nın çalışmasında da sonuçlarımızla uyumlu olarak sigara içen grupta kadınların sayısı erkeklerden daha az bulunmuştur [265].

Sigara, periodontal hastalığın, alışkanlıkların değiştirilmesi ile önlenebilir en önemli risk faktörlerinden biridir. Bireylerin sigara içme durumları serum veya tükürük nikotin veya kotinin seviyesinin ölçümü gibi biyokimyasal analiz yöntemleri ve bireye sorma gibi yöntemler ile belirlenebilir [266]. Yapılan bir araştırmada bireye sorma yöntemi ve serum

kotinin seviyesi ölçüm sonuçlarının uyumlu olduğu bildirilmiştir [267]. Çalışmamızda bireylerin sigara içme durumları, non-invaziv ve daha kolay uygulanabilir olması nedeniyle bireye sorma yöntemi ile öğrenilmiştir. Tomar ve ark.'nın (2000) çalışmasında periodontitis gelişme olasılığı ile günlük kullanılan sigara miktarı arasında doza bağlı yanıt ilişkisi olduğu bildirilmiştir [117]. Çalışmamızda günlük içilen sigara miktarı SS grubunda, sigara içilen yıl süresi ise PS grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Şaştım ve ark.'nın (2021) çalışmasında da, çalışma verilerimiz ile benzer şekilde, periodontitise sahip sigara içen bireylerde, periodontitise sahip olmayan sigara içen bireylere göre sigara içme süresi daha uzun bulunmuştur [251].

Çalışma gruplarımıza ait tüm ağız klinik Pİ skorları değerlendirildiğinde; P ve PS gruplarının her ikisinde de S ve SS gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek Pİ ölçümleri saptanmıştır ($p<0,001$). Çalışma gruplarına ait bölgesel klinik Pİ skorları değerlendirildiğinde de sonuçlar yine benzer şekilde bulunmuş; P ve PS gruplarında, S ve SS gruplarına kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Sonuçlar Bergström ve ark.'nın (2001) çalışması ile paralellik göstermektedir [150]. Ayrıca Javed ve ark.'nın (2017) çalışmasında da sigara içen bireylerde hiç sigara içmeyenlere kıyasla istatistiksel yüksek bulunan Pİ skorları ile uyumludur, ancak bu çalışmada çalışmaya dahil edilen bireylerin periodontal durumları belirtilmemiştir [268]. Silva ve ark.'nın çalışmasında da periodontitise sahip sigara içen bireyler ve içmeyen bireylerin PI değerlerinde herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir [269]. Sigara içen ve içmeyen bireylerin PI değerlerinde farklılık olmaması bireylerin oral hijyen alışkanlıklarının kontrol altına alındığı durumlarda sigaranın plak miktarını arttırmadığı çalışma sonuçları ile açıklanabilir [270, 271].

Çalışma gruplarımıza ait tüm ağız ve bölgesel klinik Gİ skorları periodontal sağlıklı gruplarda (S ve SS) en düşük, P grubunda ise en yüksek bulunmuştur. Akbulut ve ark.'nın çalışmasında Gİ skorları periodontitis grubunda periodontal sağlıklı bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) [233]. Bu sonuçlar çalışma sonuçlarımız ile uyumludur. Literatürde çok sayıda çalışmada periodontitise sahip bireylerin periodontal sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek Gİ skorlarına sahip olduğu bildirilmiştir [26, 27]. Ayrıca P grubunda, PS grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek seviyede Gİ skorları tespit edilmiştir ($p<0,05$). Çalışma gruplarına ait tüm ağız ve bölgesel klinik SK skorları değerlendirildiğinde; periodontitise sahip her iki grupta da periodontal sağlıklı gruplara kıyasla istatistiksel olarak yüksek değerler saptanmıştır ($p<0,001$). Aynı

zamanda P grubunda, PS grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek seviyede SK skorları tespit edilmiştir ($p<0,001$). Sigarada bulunan nikotin, vazokonstrüktör etkisi ile periodontal dokularda kan akımının azalmasına sebep olur. Kan akımının azalması sonucu periodontal dokuların beslenmesinin bozulduğu; dişeti enflamasyonu, hiperemi ve sondlamada kanama gibi erken dönem belirtilerin baskıladığı bildirilmiştir [272]. Sigara içen ve içmeyen periodontitise sahip bireylere ait P ve PS gruplarına ait bu bulgular, sigaranın vasküler yapılarda meydana getirdiği vazokonstrüksiyon sonucu periodontal enflamasyonun klinik belirtilerinden olan Gİ ve SK parametresini baskıladığı sonuçları ile uyumludur [142-144]. Ayrıca yapılan bir çalışmada günde 10 adetten fazla sigara içen bireylerde SK yüzdesinin % 50 oranında azaldığı ve bu baskılayıcı etkinin 4 mm ve üzeri cep derinliklerinde nispeten daha güçlü olduğu bildirilmiştir [273].

Çalışma gruplarına ait tüm ağız ve bölgesel klinik CD ve KAS skorları değerlendirildiğinde; P ve PS gruplarının her ikisinde, S ve SS gruplarına kıyasla istatistiksel olarak yüksek seviyelerde CD ve KAS skorları saptanmıştır ($p<0,001$). Yılmaz ve ark.'nın çalışmasında da Evre 3 Derece C periodontitise sahip sigara içen ve içmeyen gruplarda CD ve KAS seviyeleri, sigara içen ve içmeyen periodontal olarak sağlıklı bireylere kıyasla istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) [274].

Çeşitli çalışmalarda DOS miktarı ile periodontal hastalık arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir [275-278]. Çalışma gruplarımıza ait DOS hacmi ortalamalarının en yüksek P, en düşük ise SS grubunda olduğu tespit edilmiş, ayrıca sigara içen grupların (SS ve PS) DOS hacimleri sigara içmeyen gruplara (S ve P) kıyasla daha düşük görülmüştür; fakat gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). DOS hacmindeki farklılıklar kullanımı [279], enflamasyonun şiddeti, hormonal değişiklikler, diş fırçalama gibi çeşitli faktörler ile açıklanabilir. Literatürde sigara kullanımının vazokonstrüksiyon etkisi sebebiyle DOS hacmi üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir [279-281]. Çalışmamızda P grubunda klinik enflamasyonun göstergesi olan Gİ ve SK skorlarının diğer tüm gruplara kıyasla istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek olduğundan özellikle P grubunda yerleştirilen kağıt şeritler üzerinde sıklıkla kan kontaminasyonu gözlenmiş ve örnekleme çok kez tekrarlanmak zorunda kalmıştır. Tekrarlayan örneklemelerin P grubunda DOS miktarı üzerinde etkisi olabileceği göz önüne alınmalıdır.

Literatür incelendiğinde periodontal hastalık ile HIF-1α ve VEGF ilişkisini DOS'ta inceleyen sınırlı sayıda çalışma varlığına rastlanmıştır [26-28, 233].

Afacan B. ve ark. (2019) yaptıkları çalışmalarında, ilk kez farklı periodontal hastalıklarda (Generalize agresif periodontitis, kronik periodontitis, gingivitis) ve periodontal sağlıkta DOS HIF-1α seviyelerinin varlığını ELISA yöntemi ile göstermişlerdir [26]. Generalize agresif periodontitis ve kronik periodontitis gruplarında sağlıklı kontrollere göre HIF-1α, VEGF ve TNF-α total seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ayrıca gingivitis grubunda da HIF-1α ve TNF-α total seviyeleri sağlıklı gruptan daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Periodontal hastalık varlığında artan HIF-1α ve VEGF total seviyeleri çalışmamız sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda da hem P hem de PS gruplarında S grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek HIF-1α ve VEGF total seviyeleri tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ayrıca benzer şekilde çalışmamızda da tüm gruplara ait VEGF total değerleri ile HIF-1α total değerleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($p<0,01$). Total değerlerdeki bu benzerliklerin yanı sıra konsantrasyon değerlerinde iki çalışma arasında bazı farklılıklar göze çarpmıştır. Çalışmamızda PS grubuna ait HIF-1α ve VEGF konsantrasyon seviyeleri S grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmasına ve P ile S grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamasına karşın; Afacan ve ark.'nın çalışmasında ise HIF-1α ve VEGF konsantrasyon seviyeleri en yüksek periodontal sağlıklı grupta bulunmuştur ($p<0.05$). Yazarlar bu durumu periodontal sağlıklı grupta DOS hacminin çok düşük miktarda tespit edilmesi ile açıklamışlardır. Çalışmamızda da enflamatuar eksuda olan DOS'un hacmi en düşük S grubunda tespit edilmiş, bu farkın iki çalışmada kullanılan farklı sayıdaki kağıt şeritler ile elde edilen DOS miktarları arasındaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ek olarak Afacan ve ark., sağlıklı bireylerin DOS hacimleri düşük tespit edileceğinden sitokin konsantrasyonlarının buna bağlı olarak yanıltıcı olabileceğini, çalışma verilerinin sitokinlerin toplam miktarları esas alınarak değerlendirilmesinin daha doğru olabileceğini bildirmiştir [26]. Literatürde DOS belirteçlerini inceleyen pek çok çalışmada da total miktarların esas alındığı görülmektedir [26, 27].

Tayman ve ark. (2019) generalize agresif periodontitis ve kronik periodontitise sahip hastalarda DOS ve serum HIF-1α ve VEGF seviyelerini ELISA yöntemi ile incelemişlerdir [28]. DOS HIF-1α total seviyeleri, çalışmamızda da olduğu gibi, periodontitise sahip gruplarda periodontal sağlıklı gruba kıyasla daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). DOS VEGF

total seviyeleri ise; generalize agresif periodontitis grubunda, kronik periodontitis ve periodontal sağlıklı gruplara kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuş; kronik periodontitis ve periodontal sağlıklı gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p<0.05$). Çalışmamızda periodontitise sahip her iki grupta (P ve PS) da S grubuna kıyasla DOS VEGF total seviyeleri istatistiksel olarak yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). Çalışmalar arasındaki farklılığın iki sınıflandırma sisteminin kapsadığı hasta gruplarının farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Tayman ve ark.'nın araştırmasındaki çalışma grupları 1999 AAP [41] sınıflandırılması referans alınarak oluşturulmuş, bizim çalışma gruplarımızın oluşturulmasında ise 2017 EFP/AAP [54] sınıflandırılması referans alınmıştır. Tayman ve ark. çalışmasında DOS HIF-1α ve VEGF konsantrasyon seviyeleri periodontal sağlıklı grupta, generalize agresif periodontitis ve kronik periodontitis grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda ise; aksine DOS HIF-1α ve VEGF konsantrasyon seviyeleri S grubunda en düşük bulunmuş; SS ve PS grubunda S grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). Çalışmamız sonuçları ile benzer olarak Güneri ve ark.'nın (2004) çalışmasında da DOS VEGF konsantrasyon seviyesi en düşük periodontal sağlıklı gruplarda gözlenmiştir ($p<0,01$) [246]. Literatürde DOS'ta biyobelirteçleri konsantrasyon açısından değil, DOS'ta standart örnekleme süresi başına toplam DOS belirteç miktarları cinsinden değerlendirmenin daha güvenilir olduğunu ileri sürülmüştür [282, 283].

Afacan B. ve ark.'nın (2020) çalışması cerrahi olmayan periodontal tedaviden önce ve 3 ay sonra generalize agresif periodontitis hastalarında ELISA yöntemi ile DOS HIF-1α seviyelerini ve bunun VEGF ve TNF-α ile olası ilişkisini inceleyen ilk çalışmadır [27]. Başlangıçta hem tüm ağız hem de bölgesel klinik parametreler ve DOS HIF-lα, VEGF ve TNF-α total seviyeleri generalize agresif periodontitis hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bu bulgularla uyumlu olarak çalışmamızın sonuçlarına göre de sigara içme durumundan bağımsız olarak, periodontitise sahip gruplarda DOS HIF-1α ve VEGF total seviyeleri S grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). Afacan ve ark.'nın çalışmasının DOS HIF-1α total seviyeleri ile bölgesel CD, KAS ve Gİ değerleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Çalışmamızda da tüm gruplara ait verilerin korelasyon analizleri incelendiğinde HIF-1α ile klinik periodontal parametreler arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamış, Afacan ve ark.'nın çalışması ile benzer şekilde VEGF total değerleri ile HIF-1α total değerleri arasında ise pozitif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p<0,01$) [27].

Akbulut ve ark.'nın (2020) çalışmasında, bruksizime sahip olan ve olmayan periodontal sağlıklı ve periodontitisli bireylerin DOS HIF-lα ve VEGF seviyelerinde farklılık bulunmamıştır [233]. Çalışmada incelenen biyobelirteçlerin konsantrasyon değerleri veya total değerlerinden hangisine göre karşılaştırıldığının belirtilmediği dikkat çekmektedir; fakat çalışma sonuçlarını diğer çalışmaların total verileri ile karşılaştırdıkları göz önüne alınarak Akbulut ve ark.'nın verilerinin total veriler olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda VEGF total düzeyleri periodontitise sahip gruplarda (P ve PS) S grubundan istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Akbulut ve ark.'nın sonuçları daha önceki sınırlı mevcut literatürleri [26-28] destekleyen çalışma verilerimizden farklılık göstermektedir. Çalışmamızda hem tüm ağız hem de örnek bölgesi periodontal klinik verilerine yer verilmiştir. Akbulut ve ark.'nın çalışmasında tüm ağız periodontal klinik parametre ortalamalarına yer verildiği fakat örnek bölgesine ait verilere yer verilmediği dikkat çekmektedir. DOS'un lokal enflamatuar bir eksuda olduğu bilinmektedir. Mastrangelo ve ark.'ı (2018) farklı cep derinliklerinden toplanan DOS örneklerinde, enflamatuar biyobelirteç seviyeleri açısından anlamlı farklılık bulunduğunu bildirmiştir [284]. Bu bilgiler ışığında iki çalışma arasındaki farklılığın örnek bölgelerindeki cep derinlikleri ve lokal koşulların farklılığından kaynaklanabildiği düşünülebilir. Araştırmacılar ise sonuçlarının mevcut literatürlerden farklılığına muhtemel bir neden olarak, VEGF veya HIF-lα'nın periodontal dokular için spesifik bir belirteç olmamasını, diğer birçok hücre tarafından sentezlenebilir olmalarını ve seviyelerinin insan vücudundaki diğer fizyolojik süreçlerden etkilendiğini ileri sürmüşlerdir [233].

Literatürde HIF-2α ve HIF-3α seviyelerini oral dokular ve hücrelerde inceleyen çalışmaların sınırlı sayıda olduğu göze çarpmıştır. Klara Janjic ve ark. (2018) dental pulpa hücrelerini 2 boyutlu tek tabakada kültürleyerek ve HIF-lα, HIF-2α ve HIF-3α tespiti için western blot analizi ile incelemişlerdir. L-mimosine ve hipoksi ile indüklenen gruplarda HIF-lα, HIF-2α için belirgin bantlar tespit edilirken, kontrol grubunda ise belirgin bantlar tespit edilmemiştir. Tüm gruplarda HIF-3α için bantlar izlenmiştir [220]. Ayrıca VEGF hem mRNA hem de protein seviyeleri L-mimosine ve hipoksi ile indüklenen gruplarda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0,05$) [220]. Ebersole ve ark. (2018) genç ve yaşlı bireyleri temsil eden Rhesus maymunlarından aldıkları dişeti dokusu örneklerinde; yaşlı maymunlardan alınan, klinik olarak sağlıklı kabul edilen doku örneklerinde HIF-1α ve HIF-1β gen ekspresyonu seviyelerinde anlamlı bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca HIF-3α seviyelerinde de artış tespit edilmesine karşın fark anlamlı bulunmamıştır. HIF-2α'nın

ise yaşlı dişeti dokularında anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular, yaşlanan bireylerden alınan klinik olarak sağlıklı diş eti dokularının, yoğun enflamasyon olmaksızın, fizyolojik değişikliklere bağlı olarak daha düşük oksijen mevcudiyeti ile değişmiş bir dişeti ortamına tepki gösterdiğini ileri sürmektedir [226]. Ayrıca yaşlanma ile birlikte dişeti dokularında meydana gelen değişikliklerin anaerobik türlerin yaygınlaşabileceği bir subgingival ortam yaratabileceği ileri sürülmüştür [226]. HIF-2α'nın osteoartitin ilerlemesinde rol oynadığı kanıtlanmış ve temporomandibular eklemde; hastalıklı olmayan kıkırdaklara kıyasla osteoartritik kıkırdaklarda yüksek oranda tespit edilmiştir [285].

Çalışmamızda, HIF-2α ve HIF-3α düzeylerinin periodontal hastalıklar ve sigara ile ilişkisi ilk kez incelenmiş; ayrıca DOS içerisinde de varlıkları ilk kez değerlendirilmiştir. HIF-2α ve HIF-3α total düzeyleri P ve SS gruplarında HIF-1α ve VEGF ile benzer bir patern sergilemiştir. HIF-2α konsantrasyon düzeyleri S grubuna kıyasla sadece SS grubunda anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiş ($p<0,05$); HIF-3α konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. HIF-2α total düzeylerinin karşılaştırıldığı sonuçlar; HIF-1α total düzeylerinde olduğu gibi PS grubunda S grubuna kıyasla anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Bu durum HIF-1α ve HIF-2α'nın yapısal olarak büyük ölçüde benzerlik göstermesine karşın, periodontal dokulardaki etkisinin aynı olmayabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda P grubuna ait tüm ağız SK ortalaması yaklaşık % 88'dir ve örnek bölgesine ait SK ortalaması % 95'tir. Çalışmamıza katılan bireylerin ve çalışmaya dahil edilen bölgelerinin yüksek periodontal hastalık aktivitesi sergilediğini göstermektedir. Çalışma sonuçlarımız, aktif periodontal hastalığın periodontal sağlığa göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek total HIF-1α ve VEGF seviyeleri ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Romano ve ark. (2020) evre 3 derece B ve C periodontitise sahip iki farklı grupta orta (4-5 mm) ve derin (≥ 6 mm) şiddette ceplerde DOS VEGF total seviyelerini karşılaştırmış ve hem orta hem de derin şiddetteki cepler için yapılan karşılaştırmalarda derece B ve derece C'ye sahip gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir [286]. Çalışmamızda periodontitis gruplarımızı evre 3 derece B veya C'ye sahip bireyler oluşturmuştur.

Çetinkaya ve ark. (2007) deneysel periodontitis modelinde, periodontal hastalığın yıkım ve iyileşme evrelerinde VEGF ekspresyonunu değerlendirmiş ve kan damarı sayısı ve çaplarına

göre VEGF ekspresyonu ile vaskülarizasyon arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. İn vivo VEGF ifadeleri, iyileşme grubunda en yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Bu çalışma, VEGF ekspresyonunun periodontal hastalığın iyileşme aşamasında önemli ölçüde arttığını, yıkım aşamasındaki artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermiştir [287].

Periodontal hastalıklar ve çeşitli sistemik hastalıkların VEGF seviyelerinde değişikliğe neden olduğu gösterilmiştir. Balcı Yüce. ve ark.'nın (2019) dişeti dokularını inceledikleri çalışmalarında, VEGF seviyelerinin sistemik ve periodontal sağlıklı bireylere kıyasla periodontitise sahip sistemik olarak sağlıklı ve periodontitise sahip tip 2 diyabetik bireylerde anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir [232].

VEGF'nin destekleyici periodontal dokular da dahil olmak üzere çoğu dokunun gelişimi, yeniden şekillenmesi, onarımı ve yenilenmesi için de gerekli olduğu bilinmektedir [288, 289]. Ayrıca VEGF, vaskülojenez ve anjiyogenezin en güçlü uyarıcısı olarak kabul edilir [241]. Booth ve ark.'ı (1998) periodontal olarak sağlıklı bireylere kıyasla, periodontitise sahip bireylerin sağlıklı ve periodontitise sahip bölgelerinde daha yüksek DOS VEGF total ve konsantrasyon miktarları bildirmiştir [205]. DOS VEGF total miktarları periodontitise sahip bireylerin hastalıklı bölgelerinde, sağlıklı bölgelerine kıyasla daha yüksek tespit edilirken; DOS VEGF konsantrasyon miktarları periodontitise sahip bireylerin sağlıklı bölgelerinde, hastalıklı bölgelerine kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Yazarlar DOS VEGF konsantrasyon seviyelerinin periodontitise sahip bireylerin sağlıklı bölgelerinde daha yüksek tespit edilmesini, subklinik enflamasyonun varlığı ya da periodontal dokularda VEGF ekspresyonuna veya fizyolojik anjiyogeneze etki eden iyileşme mekanizmaları ile açıklanabileceğini ileri sürmüşlerdir [205]. Çalışmamızda da DOS VEGF total miktarları periodontitise sahip gruplarda (P ve PS) ve SS grubunda, S grubundan anlamlı derecede yüksek ($p<0.01$) tespit edilmiştir. Çalışmamızda S grubuna kıyasla, sigara içen gruplarda (SS ve PS) daha yüksek DOS VEGF konsantrasyon seviyelerinin tespit edilmesi, sigaranın vasküler yapılarda ve oksijen seviyelerinde meydana getirdiği değişiklikler ile VEGF seviyeleri arasında doğrudan bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Diğer yandan Güneri ve ark.'ı (2004) DOS VEGF konsantrasyon seviyelerini periodontitise sahip gruplarda periodontal sağlıklı gruplara kıyasla yüksek gözlemiştir ($p<0,01$) [246]. Mevcut sonuçlarımızın Güneri ve ark.'nın çalışma sonuçları ile uyumlu olduğu izlenmektedir. Benzer şekilde Pradeep ve ark.'nın (2011) periodontal sağlıklı, gingivitis, periodontitis ve cerrahi olmayan periodontal tedaviden sonra 6-8 hafta geçen bireyleri dahil ettikleri

çalışmalarında DOS VEGF konsantrasyon seviyeleri, en yüksek periodontitise sahip grupta tespit edilmiş, diğer gruplarda da periodontal sağlıklı gruba kıyasla anlamlı düzeyde yüksek gözlenmiştir [206].

Eren ve ark.'nın (2015) çalışmasında periodontal sağlıklı sigara içen ve içmeyen bireylerin DOS VEGF total ve konsantrasyon düzeylerinde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir [290]. Çalışmamızda ise VEGF hem total hem de konsantrasyon düzeyleri SS grubunda S grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Periodontal sağlıklı, sigara içen grupta sigara içilen yıl süresi; çalışmamızda 11,50±5,99 yıl, Eren ve ark.'nın çalışmasında ise 6.5 ± 1.41 yıl olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları arasındaki farklılığı sigara içilen yıl süreleri arasındaki farklılıktan kaynaklanan vasküler yapılarda meydana gelen değişiklikler ile açıklamanın mümkün olduğunu düşünmekteyiz.

Sakallıoğlu ve ark.'nın (2014) periodontal sağlıklı ve periodontitise sahip bireylerin sigara içme durumlarına göre DOS VEGF seviyelerini karşılaştırdığı çalışma sonuçlarında; VEGF total ve konsantrasyon seviyelerinin sigara içen ve içmeyen periodontitisli gruplarda periodontal sağlıklı gruplardan daha yüksek tespit edildiği ($p<0,05$) ve sigaranın aynı periodontal duruma sahip gruplar arasında anlamlı bir fark yaratmadığı bildirilmiştir [247]. Araştırmacılar çalışma sonuçlarına dayandırarak VEGF'nin sadece enflamasyon ile arttığı görüşünü ileri sürmüşlerdir. Fakat çalışmamızda periodontitise sahip gruplar (P ve PS) ve SS grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu durum bize, VEGF seviyelerinin sadece enflamasyon ile değil aynı zamanda sigaranın etkileri ile de değişikliğe uğradığını düşündürmektedir.

Türer ve ark.'nın (2017) çalışmasında periodontal sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında generalize kronik periodontitis grubunda anlamlı seviyede yüksek DOS VEGF total düzeyleri tespit edilmiştir ($p<0,05$) [291]. Sonuçlar çalışma sonuçlarımız ile uyumludur. Ek olarak kronik periodontitis grubunda Faz-1 periodontal tedavi sonrası 6. hafta VEGF total düzeyleri, kronik periodontitis grubu başlangıç seviyelerine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$) [291]. VEGF konsantrasyon düzeyleri arasında ise gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir. Mevcut çalışma, belirteçleri total düzeyler açısından değerlendirmenin uygun olacağını ileri sürmüştür [291]. Ek olarak, Gündoğar ve ark.'nın (2021) çalışmasında da çalışmamızda olduğu gibi periodontitise sahip bireylerin DOS VEGF düzeyleri periodontal sağlıklılara kıyasla daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) [292].

Sonuçlarımız ve önceki çalışmalardan elde edilen diğer bulgular [206, 246], VEGF'nin periodontal doku ve hastalıklarda önemli bir rolü olduğunun altını çizmektedir. Bununla birlikte literatür incelendiğinde VEGF ile ilişkili kesin mekanizmanın henüz tam olarak anlaşılamadığı görülmektedir. Spesifik olarak, VEGF'nin hem hastalığın ilerlemesinde hem de doku homeostazının restorasyonunda potansiyel olarak yer alması nedeniyle, VEGF'nin periodontal hastalığın iyileşme fazındaki rolünün açıklığa kavuşturulması gerektiği düşünülmektedir.

Çalışmalardan elde edilen veriler, hipoksi ve/veya spesifik HIF izoformlarının pro-anjiyogenik faktörler açısından düzenleyici etkilerinin sadece uyarıcı değil, aynı zamanda engelleyici de olabileceğini ortaya koymuştur [293, 294]. Loboda ve ark.'nın (2009) insan mikrovasküler endotel hücreleri üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında, hem gen ekspresyonu hem de protein sentezi düzeyinde hipoksi (% 1 O_2) ile İL-8 ve plasental büyüme faktörü gibi anjiyogenik kabul edilen faktörlerin ekspresyonunun güçlü bir şekilde azaldığı ve VEGF-A'nın ekspresyonunun ise arttığı gösterilmiştir [295]. Florczyk ve ark.'nın (2011) çalışmasında HIF-1α ve HIF-2α'nın ekspresyonunun aynı anjiyogenik faktör üzerinde farklı etkileri olduğu gösterilmiştir [294]. Çalışma verilerine göre HIF-2α ekspresyonunun, İL-8 hem mRNA hem de protein sentezini arttırdığı, HIF-1α ekspresyonun ise sadece İL-8 protein seviyelerini azalttığı bildirilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca HIF-1α ve HIF-2α'nın her ikisinin de VEGF mRNA ve protein ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir [294]. Ayrıca hipokside her iki izoformun stabilizasyonuna rağmen HIF-1α'nın etkisinin baskın olduğu bildirilmiştir [294].

Çalışma sonuçlarımıza göre tüm grup verileri incelendiğinde, HIF-1α ve VEGF arasında periodontitis ve enflamasyonun ilerlemesi ile ilişki olabileceği düşünülen anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Çalışmamızdan elde edilen veriler ışığında periodontitise sahip gruplarda (P ve PS) arttığı tespit edilen HIF-1α'nın periodontitisin patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini ve VEGF ekspresyonunu etkileyerek VEGF ile bağlantılı süreçlerle ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Verilerimiz hipoksinin periodontitis patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Periodontal cep derinliği arttıkça oksijen miktarının azalması sonucu anaerobik bakteriler daha baskın hale gelir. Ayrıca periodontitis varlığında çoğalan gram negatif anaerobik patojenler de periodontal dokulardaki oksijen seviyelerini düşürebilir [169]. Bu anlamda periodontal hastalık ve hipoksi arasında iki yönlü bir ilişki olduğunu söylemek mümkün olabilir.

HIF-1α'nın koruyucu etkileri göz önüne alınarak yapılan çalışmalarda HIF-1α yolunun aktivasyonunun kemik rejenerasyonunu hızlandırdığı, enflamatuar hücre infiltrasyonunu azalttığı ve yara iyileşmesini desteklediği gösterilmiştir [296, 297]. Hirai ve ark. (2018) ratlarda oluşturdukları deneysel periapikal lezyon modelinde HIF-1α aktivasyonunun periapikal enflamasyonu ve kemik kaybını azalttığını bildirmişlerdir [227]. HIF-1α 'nın fizyoloji ve patolojideki merkezi rolü, onu farmakolojik manipülasyonlar için dikkat çekici ancak karmaşık bir hedef haline getirir. HIF inhibitörlerinin, anti-kanser terapötikleri olarak bir miktar potansiyele sahip olabileceği; HIF aktivatörlerinin ise, iskemik hastalığın tedavisi için faydalı olabileceği bildirilmiştir [298]. Bu nedenle, HIF'in genel bir inhibisyonunun veya aktivasyonunun yan etkileri olabileceğinden, ilgili organ veya dokunun oldukça spesifik bir şekilde hedeflenmesi önerilmiştir [298].

Gelecek çalışmalarda 2 noktaya odaklanmak gerektiğini düşünmekteyiz. İlk olarak, bölgesel hipoksinin daha doğrudan değerlendirilmesi ve farklı cep derinliklerindeki hipoksi seviyelerinin de anlaşılması gereklidir. Bu durum, geleneksel terapilerle ilişkili yaklaşımlarımızı daha iyi yönlendirmemizi sağlayabilir. İkincisi gelecekteki tedavilerde, bölgesel kan akışının nasıl modüle edildiğini ve hem normal koşullar altında hem de hastalık durumlarında oksijen dağılımının bölgesel düzenlemelerini daha iyi anlamamız gerekmektedir. Böylelikle hipoksik durumlar için var olan dengeleyici mekanizmaları daha iyi anlamamızın ve bunlardan yararlanmanın yollarını geliştirmemizin önünün açılabileceğini düşünmekteyiz. Gelecekteki tedaviler, dokuların daha iyi oksijenlenmesini sağlamak için HIF'lerin özelliklerinden yararlanmayı da içerebilir. Bulgularımız ve daha önceki çalışmalardan elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde HIF-1α'nın periodontitise karşı terapötik bir hedef olabilme potansiyelini vurgulamak gerektiğini düşünmekteyiz.

Periodontal tedavi, homeostazı yeniden sağlamayı ve doku iyileşmesini desteklemeyi amaçlar [299]. Enfekte bölgenin mikro çevresi genellikle oksijenden yoksundur ve bu durum hipoksiye yol açar, bu da tedavi sonuçlarını iyileştirmek için oksijenasyonun önemini haklı çıkarır niteliktedir [300]. Bu nedenle, etkilenen bölgenin yeterli oksijenlenmesi, potansiyel bir tedavi stratejisi olarak düşünülebilir [34, 301].

Ayrıca DOS HIF-1α seviyelerinin incelendiği çalışmaların da oldukça sınırlı olması sebebi ile; periodontal hastalıkların patogenezinde ve ilerleyişinde hipoksi belirteçlerinin rolünün

daha iyi anlaşılması için, daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duymakla birlikte; farklı şiddette periodontitislerin değerlendirilmesine ve periodontal tedavi öncesi sonrası kıyaslamaların yapıldığı daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda periodontal sağlıklı, sigara içmeyen (Grup S) 22, periodontal sağlıklı, sigara içen (Grup SS) 22, periodontitise sahip, sigara içmeyen (Grup P) 22 ve periodontitise sahip, sigara içen (Grup PS) 22 bireye ait DOS örneklerinde HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VEGF düzeylerinin değerlendirilmesi, bu biyobelirteçler aralarındaki ilişkinin incelenmesi, klinik periodontal parametreler ile laboratuvar sonuçları arasındaki korelasyonların belirlenmesi, hipoksi sürecinde rol alan HIF-2α ve HIF-3α'nın periodontal dokulardaki varlığının saptanabilmesi ve sigaranın periodontal dokularda meydana getirdiği hipoksik etkilerin HIF düzeylerini inceleyerek DOS'ta değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Literatür bilgilerimiz dahilinde çalışmamız, periodontal dokularda HIF-2α ve HIF-3α düzeylerini değerlendiren ilk çalışmadır. Mevcut çalışmamızda şu sonuçlara varılmıştır;

1. Periodontal sağlıkta ve periodontitis varlığında HIF-2α ve HIF-3α'nın DOS'ta tespit edilebildiği ilk kez gösterildi.
2. Sigara ve periodontitisin hipoksi ile ilişkili biyobelirteçler üzerindeki etkisi DOS'ta ilk kez gösterildi.
3. DOS HIF-1α, HIF-3α ve VEGF total seviyeleri S grubuna kıyasla SS, P ve PS gruplarında; HIF-2α total seviyeleri ise S grubuna kıyasla SS ve P gruplarında istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$).
4. DOS HIF-1α ve VEGF konsantrasyon seviyeleri S grubuna kıyasla SS ve PS gruplarında; HIF-2α konsantrasyon seviyeleri ise S grubuna kıyasla SS grubunda istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p<0,05$). HIF-3α düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık izlenmedi.
5. İncelenen biyobelirteçler çerçevesinde hem sigaranın hem de periodontitisin, periodontal dokuların hipoksisi üzerinde etkili oldukları görüldü.
6. Mevcut sonuçlar hipoksi ile indüklenebilir faktör ailesinin bilinen üç üyesinin de periodontitis ve sigara kaynaklı periodontal hipoksi sürecinde rol oynayabileceklerini gösterdi.

Periodontal dokulardaki hipoksi mekanizmasının ve bu süreçlerde hipoksi ile indüklenebilir faktör ailesinin rollerinin daha iyi anlaşılabilmesi için konuyu daha kapsamlı olarak ele alacak daha ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır. İleriye yönelik yapılacak araştırmalarda; çalışma gruplarını cep derinliklerine ve sigara içme miktarlarına göre farklı alt gruplara ayırmanın yeni çalışmalar açısından yön verici olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Darveau, R.P. (2010). Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology 8*, 481-490.

2. Tonetti, M.S., Greenwell, H., and 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.

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

4. Page, R.C., Engel, L.D., Narayanan, A.S., and Clagett, J.A. (1978). Chronic inflammatory gingival and periodontal disease. *Jama 240*, 545-550.

5. Güntsch, A., Erler, M., Preshaw, P., Sigusch, B., Klinger, G., and Glockmann, E. (2006). Effect of smoking on crevicular polymorphonuclear neutrophil function in periodontally healthy subjects. *Journal of periodontal research 41*, 184-188.

6. Pabst, M.J., Pabst, K.M., Collier, J.A., Coleman, T.C., Lemons-Prince, M.L., Godat, M.S., Waring, M.B., and Babu, J.P. (1995). Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. *Journal of periodontology 66*, 1047-1055.

7. Raulin, L., McPherson III, J., McQuade, M., and Hanson, B. (1988). The effect of nicotine on the attachment of human fibroblasts to glass and human root surfaces in vitro. *Journal of Periodontology 59*, 318-325.

8. McLaughlin, W., Lovat, F., Macgregor, I., and Kelly, P. (1993). The immediate effects of smoking on gingival fluid flow. *Journal of clinical periodontology 20*, 448-451.

9. Turnbull, B. (1995). Smoking and periodontal disease. A review. *Journal of the New Zealand Society of Periodontology*, 10-15.

10. Shukla, S.D., Walters, E.H., Simpson, J.L., Keely, S., Wark, P.A., O'Toole, R.F., and Hansbro, P.M. (2020). Hypoxia-inducible factor and bacterial infections in chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology 25*, 53-63.

11. Silverstein, P. (1992). Smoking and wound healing. *The American journal of medicine 93*, S22-S24.

12. Wan, C.P., Leung, W.K., Wong, M.C., Wong, R.M., Wan, P., Lo, E.C., and Corbet, E.F. (2009). Effects of smoking on healing response to non-surgical periodontal therapy: a multilevel modelling analysis. *Journal of Clinical Periodontology 36*, 229-239.

13. Bain, C.A., Weng, D., and Kohles, S.S. (2002). A Meta-Analysis Evaluating the Risk for Implant Failure in. *Compendium 695*.

14. Bergström, J., Persson, L., And Preber, H. (1988). Influence of cigarette smoking on vascular reaction during experimental gingivitis. *European Journal of Oral Sciences 96*, 34-39.

15. Gordan, J.D., and Simon, M.C. (2007). Hypoxia-inducible factors: central regulators of the tumor phenotype. *Current opinion in genetics & development 17*, 71-77.

16. Bartruff, J.B., Yukna, R.A., and Layman, D.L. (2005). Outer membrane vesicles from Porphyromonas gingivalis affect the growth and function of cultured human gingival fibroblasts and umbilical vein endothelial cells. *Journal of periodontology 76*, 972-979.

17. Carmeliet, P., Dor, Y., Herbert, J.-M., Fukumura, D., Brusselmans, K., Dewerchin, M., Neeman, M., Bono, F., Abramovitch, R., and Maxwell, P. (1998). Role of HIF-1α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature 394*, 485-490.

18. Salnikow, K., Blagosklonny, M.V., Ryan, H., Johnson, R., and Costa, M. (2000). Carcinogenic nickel induces genes involved with hypoxic stress. *Cancer research 60*, 38-41.

19. Salnikow, K., Donald, S.P., Bruick, R.K., Zhitkovich, A., Phang, J.M., and Kasprzak, K.S. (2004). Depletion of intracellular ascorbate by the carcinogenic metals nickel and cobalt results in the induction of hypoxic stress. *Journal of Biological Chemistry 279*, 40337-40344.

20. Griffiths, G.S. (2003). Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000 31*, 32-42.

21. Embery, G., Waddington, R.J., Hall, R.C., and Last, K.S. (2000). Connective tissue elements as diagnostic aids in periodontology. *Periodontology 2000 24*, 193-214.

22. McCulloch, C. (1994). Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. *Journal of clinical periodontology 21*, 497-506.

23. Ng, K.T., Li, J.P., Ng, K.M., Tipoe, G.L., Leung, W.K., and Fung, M.L. (2011). Expression of hypoxia-inducible factor-1α in human periodontal tissue. *Journal of periodontology 82*, 136-141.

24. Vasconcelos, R.C., Costa Ade, L., Freitas Rde, A., Bezerra, B.A., Santos, B.R., Pinto, L.P., and Gurgel, B.C. (2016). Immunoexpression of HIF-1alpha and VEGF in periodontal disease and healthy gingival tissues. *Braz Dent J 27*, 117-122.

25. Karatas, O., Balci Yuce, H., Tulu, F., Taskan, M.M., Gevrek, F., and Toker, H. (2019). Evaluation of apoptosis and hypoxia-related factors in gingival tissues of smoker and non-smoker periodontitis patients. *Journal of Periodontal Research*.

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

27. Afacan, B., Yücel, Z.P.K., Paşali, Ç., İlhan, H.A., Köse, T., and Emingil, G. (2020). Effect of non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid hypoxia inducible factor-1 alpha, vascular endothelial growth factor and tumour necrosis factor-alpha levels in generalized aggressive periodontitis patients. *Journal of Periodontology*.

28. Tayman, M.A., Kurgan, Ş., Önder, C., Güney, Z., Serdar, M.A., Kantarcı, A., and Günhan, M. (2019). A disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin-1 (ADAMTS-1) levels in gingival crevicular fluid correlate with vascular endothelial growth factor-A, hypoxia-inducible factor-1α, and clinical parameters in patients with advanced periodontitis. *Journal of periodontology 90*, 1182-1189.

29. Tonetti, M.S., Van Dyke, T.E., and workshop*, w.g.o.t.j.E.A. (2013). Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the joint EFP/AAP workshop on periodontitis and systemic diseases. *Journal of periodontology 84*, S24-S29.

30. Newman, M., Takei, H., and Klokkevold, P. (2012). Carranza's Clinical Periodontology 11th edition *St. Louis: Mosby*, 414-418.

31. Williams, R.C. (1990). Periodontal disease. *New England Journal of Medicine 322*, 373-382.

32. Ohuchi, M., and Fujimura, A. (2004). Changes of blood flow in pressure side of periodontal ligament tooth movement. *Dent. J. Iwate Med. University 29*, 15-23.

33. Kim, S. (1985). Regulation of pulpal blood flow. *Journal of Dental Research 64*, 590-596.

34. Gölz, L., Memmert, S., Rath-Deschner, B., Jäger, A., Appel, T., Baumgarten, G., Götz, W., and Frede, S. (2014). LPS from P. gingivalis and hypoxia increases oxidative stress in periodontal ligament fibroblasts and contributes to periodontitis. *Mediators of Inflammation 2014*.

35. Kinane, D., Lindhe, J., and Trombelli, L. (2003). Chronic periodontitis. *Clinical periodontology and implant dentistry 2*, 420-423.

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

37. Zijnge, V., van Leeuwen, M.B.M., Degener, J.E., Abbas, F., Thurnheer, T., Gmür, R., and M. Harmsen, H.J. (2010). Oral biofilm architecture on natural teeth. *PloS one 5*, e9321.

38. Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Di Donato, A., and Parrilli, M. (2006). The biofilm matrix of Pseudomonas sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. *Carbohydrate research 341*, 2456-2461.

39. Huang, R., Li, M., and Gregory, R.L. (2011). Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence 2*, 435-444.

40. Özer, D.Ö., and Demiralp, B. (2005). Periodontitis kardiyovasküler hastaliğa neden olur mu? *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2005*, 62-70.

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

42. Ebersole, J.L., and Taubman, M.A. (1994). The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontology 2000 5*, 112-141.

43. Waerhaug, J. (1976). Subgingival plaque and loss of attachment in periodontosis as observed in autopsy material. *Journal of periodontology 47*, 636-642.

44. Cosyn, J., and Sabzevar, M.M. (2005). A systematic review on the effects of subgingival chlorhexidine gel administration in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of periodontology 76*, 1805-1813.

45. Genco, R. (1996). Consensus report, periodontal disease; pathogenesis and microbial factors. *Ann. Periodontol. 1*, 926-932.

46. Highfield, J. (2009). Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian dental journal 54*, S11-S26.

47. Murakami, S., Mealey, B.L., Mariotti, A., and Chapple, I.L. (2018). Dental plaque–induced gingival conditions. *Journal of clinical periodontology 45*, S17-S27.

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

49. Kinane, D.F., and Lappin, D.F. (2001). Clinical, pathological and immunological aspects of periodontal disease. *Acta odontologica scandinavica 59*, 154-160.

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

51. Corbet, E.F., Zee, K.Y., and Lo, E.C. (2002). Periodontal diseases in Asia and Oceania. *Periodontology 2000 29*, 122-152.

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

53. Kassebaum, N., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C., and Marcenes, W. (2014). Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *Journal of dental research 93*, 1045-1053.

54. Caton, J.G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I.L., Jepsen, S., Kornman, K.S., Mealey, B.L., Papapanou, P.N., Sanz, M., 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. Wiley Online Library.

55. Dommisch, H., Kebschull, M., Newman, M., Takei, H., Klokkevold, P., and Carranza, F. (2015). Chronic periodontitis. *Carranza's Clinical Periodontology. 12th ed. Amsterdam: Elsevier*, 313-320.

56. Sun, Y., Shu, R., Zhang, M.-Z., and Wu, A.-P. (2008). Toll-like receptor 4 signaling plays a role in triggering periodontal infection. *FEMS immunology & medical microbiology 52*, 362-369.

57. Hugoson, A., Sjödin, B., and Norderyd, O. (2008). Trends over 30 years, 1973–2003, in the prevalence and severity of periodontal disease. *Journal of clinical periodontology 35*, 405-414.

58. Eke, P.I., Dye, B.A., Wei, L., Slade, G.D., Thornton-Evans, G.O., Borgnakke, W.S., Taylor, G.W., Page, R.C., Beck, J.D., and Genco, R.J. (2015). Update on prevalence of periodontitis in adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. J*ournal of periodontology 86*, 611-622.

59. Ilhan, D., Oktay, I., Nur, B., Fisekcioglu, E., Lim, S., Lepkowski, J.M., and Ismail, A.I. (2017). Percentage and severity of periodontal diseases in Turkish adults aged 35+ years, 2009-10. *Journal of public health dentistry 77*, 325-333.

60. Kumarswamy, A., Jin, L., Iacono, V., Byakod, G., Chiu, G., Duygu, I., Fernandes, B., Kemal, Y., Loomer, P., and Masud, M. (2015). Group E. Consensus paper. Interprofessional education and multidisciplinary teamwork for prevention and effective management of periodontal disease. *Journal of the international academy of periodontology 17*, 84-86.

61. Gold, S.I. (1985). Periodontics. The past: Part (I). Early sources. *Journal of clinical periodontology 12*, 79-97.

62. Sprague, W., Loe, H., Carranza, F., Baer, P., Bradley, R., Cattoni, M., Ferrigno, P., Gupta, O., Landay, M., and Moser, E. (1966). *Committee report-periodontal pathology*. In world workshop in periodontics-1966. Chicago: American academy of periodontology, volume 123.

63. O'leary, T. (1986). Glossary of periodontic terms. *J periodontol 57*, 17.

64. Periodontology, A.A.o. (1989). *Proceedings of the world workshop in clinical periodontics*: American Academy of Periodontology.

65. Lang, N.P., and Karring, T. (1994). *Proceedings of the 1st european workshop on periodontology, charter house at ittingen, thurgau, Switzerland, February 1-4, 1993:* Quintessence publishing company.

66. Lindhe, J., Haffaiee, A., and Socransky, S. (1983). Progression of periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy. *Journal of clinical periodontology 10*, 433-442.

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

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

69. Baer, P.N. (1971). The case for periodontosis as a clinical entity. *Journal of periodontology 42*, 516-520.

70. Lang, N., Bartold, P.M., Cullinan, M., Jeffcoat, M., Mombelli, A., Murakami, S., Page, R., Papapanou, P., Tonetti, M., and Van Dyke, T. (1999). Consensus report: aggressive periodontitis. *Annals of periodontology 4*, 53-53.

71. Papapanou, P.N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D.H., Flemmig, T.F., Garcia, R., Giannobile, W.V., 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.

72. Lang, N.P., and Bartold, P.M. (2018). Periodontal health. *Journal of periodontology 89*, S9-S16.

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

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

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

76. Brill, N., and Krasse, B. (1958). The passage of tissue fluid into the clinically healthy gingival pocket. *Acta odontologica scandinavica 16*, 233-245.

77. Alfano, M.C. (1974). The origin of gingival fluid. *Journal of theoretical biology 47*, 127-136.

78. Barros, S.P., Williams, R., Offenbacher, S., and Morelli, T. (2016). Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology 2000 70*, 53-64.

79. Bader, H., and Goldhaber, P. (1966). The passage of intravenously administered tetracycline in the gingival sulcus of dogs. *Journal of oral therapeutics and pharmacology 2*, 324-329.

80. Egelberg, J. (1963). Cellular elements in gingival pocket fluid. *Acta odontologica scandinavica 21*, 283-287.

81. Champagne, C.M., Buchanan, W., Reddy, M.S., Preisser, J.S., Beck, J.D., and Offenbacher, S. (2003). Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontology 2000 31*, 167-180.

82. Challacombe, S. (1980). Passage of serum immunoglobulins into the oral cavity. *Borderland between caries and periodontal disease 11*, 51-67.

83. Curtis, M., Griffiths, G., Price, S., Coulthurst, S., and Johnson, N. (1988). The total protein concentration of gingival crevicular fluid: Variation with sampling time and gingival inflammation. *Journal of clinical periodontology 15*, 628-632.

84. Lamster, I., Harper, D., Goldstein, S., Celenti, R., and Oshrain, R. (1989). The effect of sequential sampling on crevicular fluid volume and enzyme activity. *Journal of clinical periodontology 16*, 252-258.

85. Perozini, C., Chibebe, P.C., Leão, M.V.P., da Silva Queiroz, C., and Pallos, D. (2010). Gingival crevicular fluid biochemical markers in periodontal disease: a cross-sectional study. *Quintessence International 41*.

86. Alexander, D.C., Martin, J.C., King, P.J., Powell, J.R., Caves, J., and 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*, 755-762.

87. Armitage, G.C. (2004). Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontology 2000 34*, 109-119.

88. Okada, H., and Murakami, S. (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease. *Critical reviews in oral biology & medicine 9*, 248-266.

89. Ramadan, D.E., Hariyani, N., Indrawati, R., Ridwan, R.D., and Diyatri, I. (2020). Cytokines and chemokines in periodontitis. *European journal of dentistry 14*, 483-495.

90. Owen, J.A., Punt, J., and Stranford, S.A. (2013). *Kuby immunology*: WH Freeman New York.

91. Andrukhov, O., Ulm, C., Reischl, H., Nguyen, P.Q., Matejka, M., and Rausch-Fan, X. (2011). Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. *Journal of periodontology 82*, 885-892.

92. Takashiba, S., Naruishi, K., and Murayama, Y. (2003). Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. *Journal of periodontology 74*, 103-110.

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

94. Graves, D. (2008). Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology 79*, 1585-1591.

95. Seymour, G.J., and Gemmell, E. (2001). Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta odontologica scandinavica 59*, 167-173.

96. Hatipoğlu, H. (2010). Dişeti oluğu sıvısı (DOS) elde etme sürecine etki eden potansiyel faktörler. *Ege üniversitesi diş hekimliği fakültesi dergisi 31*, 69-81.

97. Sueda, T., Bang, J., and Cimasoni, G. (1969). Collection of gingival fluid for quantitative analysis. *Journal of dental research 48*.

98. Loe, H. (1965). Absence and presence of fluid normal and inflamed gingivae. *Periodontics 3*, 171-177.

99. Winstein, E. (1967). Studies of gingival fluid. *Periodontics 5*, 161-166.

100. Rossomando, E., Kennedy, J., and Hadjimichael, J. (1990). Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Archives of oral biology 35*, 431-434.

101. Reinhardt, R.A., Masada, M.P., Kaldahl, W.B., DuBois, L.M., Kornman, K.S., Choi, J.I., Kalkwarf, K.L., and Allison, A.C. (1993). Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *Journal of clinical periodontology 20*, 225-231.

102. Geivelis, M., Turner, D., Pederson, E., and Lamberts, B. (1993). Measurements of interleukin-6 in gingival crevicular fluid from adults with destructive periodontal disease. *Journal of periodontology 64*, 980-983.

103. Pryor, W.A., and Stone, K. (1993). Oxidants in Cigarette Smoke Radicals, Hydrogen Peroxide, Peroxynitrate, and Peroxynitrite a. *Annals of the New York Academy of Sciences 686*, 12-27.

104. Control, C.f.D., and Prevention (2010). How tobacco smoke causes disease: The biology and behavioral basis for smoking-attributable disease: A report of the surgeon general.

105. Horinouchi, T., Higashi, T., Mazaki, Y., and Miwa, S. (2016). Carbonyl compounds in the gas phase of cigarette mainstream smoke and their pharmacological properties. *Biological and pharmaceutical bulletin 39*, 909-914.

106. Huang, M., Lin, W., and Ma, Y. (2005). A study of reactive oxygen species in mainstream of cigarette. *Indoor air 15*, 135-140.

107. US (2006). Department of Health and Human Services. The health consequences of involuntary Exposure to Tobacco smoke. A Report of the Surgeon General. US DHHS Rockville MD.

108. Gorman, D., Drewry, A., Huang, Y.L., and Sames, C. (2003). The clinical toxicology of carbon monoxide. *Toxicology 187*, 25-38.

109. Nemr, R., Lasserre, B., and Chahine, R. (2003). Effects of nicotine on thromboxane/prostacyclin balance in myocardial ischemia. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids 68*, 191-195.

110. Yu, X.-J., Xiao, C.-J., Du, Y.-M., Liu, S., Du, Y., and Li, S. (2015). Effect of hypoxia on the expression of RANKL/OPG in human periodontal ligament cells in vitro. *International journal of clinical and experimental pathology 8*, 12929.

111. Jensen, J.A., Goodson, W.H., Hopf, H.W., and Hunt, T.K. (1991). Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Archives of surgery 126*, 1131-1134.

112. Kim, Y.S., Shin, S.I., Kang, K.L., Chung, J.H., Herr, Y., Bae, W.J., and Kim, E.C. (2012). Nicotine and lipopolysaccharide stimulate the production of MMPs and prostaglandin E2 by hypoxia-inducible factor-1α up-regulation in human periodontal ligament cells. *Journal of periodontal research 47*, 719-728.

113. Genco, R.J., and LÖE, H. (1993). The role of systemic conditions and disorders in periodontal disease. *Periodontology 2000 2*, 98-116.

114. Bergström, J., and Ellasson, S. (1987). Noxious effect of cigarette smoking on periodontal health. *Journal of periodontal research 22*, 513-517.

115. Bergström, J., Eliasson, S., and Dock, J. (2000). A 10-year prospective study of tobacco smoking and periodontal health. *Journal of periodontology 71*, 1338-1347.

116. Haber, J., Wattles, J., Crowley, M., Mandell, R., Joshipura, K., and Kent, R.L. (1993). Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. *Journal of periodontology 64*, 16-23.

117. Tomar, S.L., and Asma, S. (2000). Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. *Journal of periodontology 71*, 743-751.

118. Johnson, G.K., and Guthmiller, J.M. (2007). The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontology 2000 44*, 178-194.

119. Haber, J. (1994). Smoking is a major risk factor for periodontitis. *Current opinion in periodontology*, 12-18.

120. Schatzle, M., Faddy, M.J., Cullinan, M.P., Seymour, G.J., Lang, N.P., Bürgin, W., Anerud, A., Boysen, H., and Löe, H. (2009). The clinical course of chronic periodontitis: V. Predictive factors in periodontal disease. *Journal of clinical periodontology 36*, 365-371.

121. Periodontoloji, S.P. (1981). Erler matbaası. İstanbul.

122. Kang, S., Park, H., Ban, J., Chung, J., Chun, G., and Cho, J. (2011). Effects of nicotine on apoptosis in human gingival fibroblasts. *Archives of oral biology 56*, 1091-1097.

123. Kashiwagi, Y., Yanagita, M., Kojima, Y., Shimabukuro, Y., and Murakami, S. (2012). Nicotine up-regulates IL-8 expression in human gingival epithelial cells following stimulation with IL-1β or P. gingivalis lipopolysaccharide via nicotinic acetylcholine receptor signalling. *Archives of oral biology 57*, 483-490.

124. Liu, Y.-F., Ge, X., Wen, L.-Y., and Wang, X.-J. (2011). Targeting nicotinic acetylcholine receptor to treat smoking-related periodontitis. *Medical hypotheses 76*, 244-245.

125. Rothem, D.E., Rothem, L., Soudry, M., Dahan, A., and Eliakim, R. (2009). Nicotine modulates bone metabolism-associated gene expression in osteoblast cells. *Journal of bone and mineral metabolism 27*, 555-561.

126. Tanaka, H., Tanabe, N., Shoji, M., Suzuki, N., Katono, T., Sato, S., Motohashi, M., and Maeno, M. (2006). Nicotine and lipopolysaccharide stimulate the formation of osteoclast-like cells by increasing macrophage colony-stimulating factor and prostaglandin E2 production by osteoblasts. *Life sciences 78*, 1733-1740.

127. Johnson, G. (1999). Tobacco use and the periodontal patient. *J Periodontol 70*, 1419-1427.

128. Mehta, H., Nazzal, K., and Sadikot, R. (2008). Cigarette smoking and innate immunity. *Inflammation research 57*, 497-503.

129. Palmer, R., Stapleton, J., Sutherland, G., Coward, P., Wilson, R., and Scott, D. (2002). Effect of nicotine replacement and quitting smoking on circulating adhesion molecule profiles (sICAM-1, sCD44v5, sCD44v6). *European journal of clinical investigation 32*, 852-857.

130. Theiss, S.M., Boden, S.D., Hair, G., Titus, L., Morone, M.A., and Ugbo, J. (2000). The effect of nicotine on gene expression during spine fusion. *Spine 25*, 2588-2594.

131. Yamano, S., Berley, J.A., Kuo, W.P., Gallucci, G.O., Weber, H.P., and Sukotjo, C. (2010). Effects of nicotine on gene expression and osseointegration in rats. *Clinical oral implants research 21*, 1353-1359.

132. Danielsen, B., Manji, F., Nagelkerke, N., Fejerskov, O., and Baelum, V. (1990). Effect of cigarette smoking on the transition dynamics in experimental gingivitis. *Journal of clinical periodontology 17*, 159-164.

133. Schenkein, H.A., Gunsolley, J.C., Koertge, T.E., Schenkein, J.G., and Tew, J.G. (1995). Smoking and its effects on early-onset periodontitis. *The journal of the american dental association 126*, 1107-1113.

134. Öztürk, A. (2018). Agresif periodontitis patogenezinde çevresel ve genetik faktörlerin rolü. *Türkiye klinikleri j periodontol-special topics 4*, 31-39.

135. McGuire, J.R., McQuade, M.J., Rossmann, J.A., Garnick, J.J., Sutherland, D.E., Scheidt, M.J., and Van Dyke, T.E. (1989). Cotinine in saliva and gingival crevicular fluid of smokers with periodontal disease. *Journal of periodontology 60*, 176-181.

136. Kaldahl, W.B., Johnson, G.K., Patil, K.D., and Kalkwarf, K.L. (1996). Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *Journal of periodontology 67*, 675-681.

137. Stabholz, A., Soskolne, W.A., and Shapira, L. (2010). Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000 53*, 138-153.

138. Fiorini, T., Musskopf, M.L., Oppermann, R.V., and Susin, C. (2014). Is there a positive effect of smoking cessation on periodontal health? A systematic review. *Journal of periodontology 85*, 83-91.

139. Persson, L., Bergström, J., Gustafsson, A., and Asman, B. (1999). Tobacco smoking and gingival neutrophil activity in young adults. *Journal of clinical periodontology 26*, 9-13.

140. Apatzidou, D., Riggio, M., and Kinane, D. (2005). Impact of smoking on the clinical, microbiological and immunological parameters of adult patients with periodontitis. *Journal of clinical periodontology 32*, 973-983.

141. Üstün, K., and Alptekin, N.Ö. (2007). The effect of tobacco smoking on gingival crevicular fluid volume. *European journal of dentistry 1*, 236-239.

142. Feldman, R.S., Bravacos, J.S., and Rose, C.L. (1983). Association between smoking different tobacco products and periodontal disease indexes. *Journal of periodontology 54*, 481-487.

143. Bergström, J. (1989). Cigarette smoking as risk factor in chronic periodontal disease. *Community dentistry and oral epidemiology 17*, 245-247.

144. Axelsson, P., Paulartder, J., and Lindhe, J. (1998). Relationship between smoking and dental status in 35-, 50-, 65-, and 75-year-old individuals. *Journal of clinical periodontology 25*, 297-305.

145. Clarke, N.G., and Carey, S.E. (1985). Etiology of chronic periodontal disease: an alternative perspective. *The journal of the american dental association 110*, 689-691.

146. Baab, D.A., and Öberg, P.A. (1987). The effect of cigarette smoking on gingival blood flow in humans. *Journal of clinical periodontology 14*, 418-424.

147. Meekin, T., Wilson, R., Scott, D., Ide, M., and Palmer, R. (2000). Laser Doppler flowmeter measurement of relative gingival and forehead skin blood flow in light and heavy smokers during and after smoking. *Journal of clinical periodontology 27*, 236-242.

148. Van der Weijden, G., De Slegte, C., Timmerman, M., and Van der Velden, U. (2001). Periodontitis in smokers and non-smokers: intra-oral distribution of pockets: A retrospective study. *Journal of clinical periodontology 28*, 955-960.

149. Grossi, S.G., Zambon, J., Machtei, E.E., Schifferle, R., Andreana, S., Genco, R.J., Cummins, D., And Harrap, G. (1997). Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. *The journal of the american dental association 128*, 599-607.

150. Bergström, J., and Boström, L. (2001). Tobacco smoking and periodontal hemorrhagic responsiveness. *Journal of clinical periodontology 28*, 680-685.

151. Farina, R., Scapoli, C., Carrieri, A., Guarnelli, M.E., and Trombelli, L. (2011). Prevalence of bleeding on probing: a cohort study in a specialist periodontal clinic. *Quintessence international 42*.

152. Toker, H., Ozdemir, H., and Kaya, E. (2011). Sigara içen ve içmeyen kronik periodontitisli hastalarda başlangıç periodontal tedavinin dişeti oluğu sıvısı myeloperoksidaz seviyeleri üzerine etkisi. *Cumhuriyet dental journal 12*, 5-11.

153. Preber, H., and Bergström, J. (1986). The effect of non-surgical treatment on periodontal pockets in smokers and non-smokers. *Journal of clinical periodontology 13*, 319-323.

154. Pucher, J.J., Shibley, O., Dentino, A.R., and Ciancio, S.G. (1997). Results of limited initial periodontal therapy in smokers and non-smokers. J*ournal of periodontology 68*, 851-856.

155. Preber, H., Kant, T., and Bergström, J. (1980). Cigarette smoking, oral hygiene and periodontal health in Swedish army conscripts. *Journal of clinical periodontology 7*, 106-113.

156. Zambon, J., Grossi, S., Machtei, E., Ho, A., Dunford, R., and Genco, R. (1996). Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. *Journal of periodontology 67*, 1050-1054.

157. Bergström, J., and Eliasson, S. (1987). Cigarette smoking and alveolar bone height in subjects with a high standard of oral hygiene. *Journal of clinical periodontology 14*, 466-469.

158. ve İçmeyen, K.P.S.İ., Fosfataz, B.D.O.S.A., and Aktivitesi, E. (2006). The enzyme activity of alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid of smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *Enzyme 30*, 25-32.

159. Guo, S.a., and DiPietro, L.A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of dental research 89*, 219-229.

160. Biddlestone, J., Bandarra, D., and Rocha, S. (2015). The role of hypoxia in inflammatory disease. *International journal of molecular medicine 35*, 859-869.

161. Cheng, R., Liu, W., Zhang, R., Feng, Y., Bhowmick, N.A., and Hu, T. (2017). Porphyromonas gingivalis-derived lipopolysaccharide combines hypoxia to induce caspase-1 activation in periodontitis. *Frontiers in cellular and infection microbiology 7*, 474.

162. Xiao, Z., Han, Y., Zhang, Y., and Zhang, X. (2017). Hypoxia-regulated human periodontal ligament cells via Wnt/β-catenin signaling pathway. *Medicine 96*.

163. Takedachi, M., Iyama, M., Sawada, K., Mori, K., Yamamoto, S., Morimoto, C., Yanagita, M., and Murakami, S. (2017). Hypoxia-inducible factor-1α inhibits interleukin-6 and-8 production in gingival epithelial cells during hypoxia. *Journal of periodontal research 52*, 127-134.

164. Semenza, G.L. (2000). HIF-1 and human disease: one highly involved factor. *Genes & development 14*, 1983-1991.

165. Eltzschig, H.K., and Carmeliet, P. (2011). Hypoxia and inflammation. *New England journal of medicine 364*, 656-665.

166. Koh, M.Y., and Powis, G. (2012). Passing the baton: the HIF switch. *Trends in biochemical sciences 37*, 364-372.

167. Bosshardt, D.D. (2018). The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontology 2000 76*, 43-50.

168. Özçelik, H., Batool, F., Corre, M., Garlaschelli, A., Conzatti, G., Stutz, C., Petit, C., Delpy, E., Zal, F., and Leize-Zal, E. (2021). Characterization of a hyaluronic acid-based hydrogel containing an extracellular oxygen carrier (M101) for periodontitis treatment: an in vitro study. *International journal of pharmaceutics*, 120810.

169. Mettraux, G., Gusberti, F.A., and Graf, H. (1984). Oxygen tension (pO2) in untreated human periodontal pockets. *Journal of periodontology 55*, 516-521.

170. Gordon, D., Stutman, M., and Loesche, W. (1971). Improved isolation of anaerobic bacteria from the gingival crevice area of man. *Applied microbiology 21*, 1046-1050.

171. Loesche, W., Gusberti, F., Mettraux, G., Higgins, T., and Syed, S. (1983). Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated human periodontal pockets. *Infection and immunity 42*, 659-667.

172. Semenza, G.L. (2007). Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) pathway. *Science's STKE 2007*, cm8-cm8.

173. Wang, G.L., Jiang, B.-H., Rue, E.A., and Semenza, G.L. (1995). Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O2 tension. *Proceedings of the national academy of sciences 92*, 5510-5514.

174. Motohira, H., Hayashi, J., Tatsumi, J., Tajima, M., Sakagami, H., and Shin, K. (2007). Hypoxia and reoxygenation augment bone-resorbing factor production from human periodontal ligament cells. *Journal of periodontology 78*, 1803-1809.

175. Savage, A., Eaton, K.A., Moles, D.R., and Needleman, I. (2009). A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *Journal of clinical periodontology 36*, 458-467.

176. Keith, B., Johnson, R.S., and Simon, M.C. (2012). HIF1α and HIF2α: sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. *Nature reviews cancer 12*, 9-22.

177. Song, A., Hou, C., Chen, J., Sun, J., Tian, T., and Li, S. (2012). Effect of hypoxia on the expression of matrix metalloproteinase and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase mRNA in human periodontal ligament fibroblasts in vitro. *Chinese journal of stomatology 47*, 599.

178. Cochran, D.L. (2008). Inflammation and bone loss in periodontal disease. *Journal of periodontology 79*, 1569-1576.

179. Koo, T.H., Jun, H.O., Bae, S.-K., Kim, S.-R., Moon, C.-P., Jeong, S.-K., Kim, W.-S., Kim, G.C., Jang, H.-O., and Yun, I. (2007). Porphyromonas gingivalis, Periodontal pathogen, lipopolysaccharide induces angiogenesisvia extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation in human vascular endothelial cells. *Archives of pharmacal research 30*, 34-42.

180. Karhausen, J., Haase, V.H., and Colgan, S.P. (2005). Inflammatory hypoxia: role of hypoxia-inducible factor. *Cell cycle 4*, 255-257.

181. Lee, C., Cheng, W., Chang, M., Su, Y., Chen, C., and Hsieh, F. (2005). Hypoxia-induced apoptosis in endothelial cells and embryonic stem cells. *Apoptosis 10*, 887-894.

182. Tanaka, M., Hanioka, T., Takaya, K., and Shizukuishi, S. (1998). Association of oxygen tension in human periodontal pockets with gingival inflammation. *Journal of periodontology 69*, 1127-1130.

183. Lin, M.I., and Sessa, W.C. (2006). Vascular endothelial growth factor signaling to endothelial nitric oxide synthase: more than a fleeting moment. *Circulation reserch*, 99, 666-668.

184. Marsh, P.D., and Devine, D.A. (2011). How is the development of dental biofilms influenced by the host? *Journal of clinical periodontology 38*, 28-35.

185. Mendes, R.T., Nguyen, D., Stephens, D., Pamuk, F., Fernandes, D., Van Dyke, T.E., and Kantarci, A. (2016). Endothelial cell response to Fusobacterium nucleatum. *Infection and immunity 84*, 2141-2148.

186. Mendes, R.T., Nguyen, D., Stephens, D., Pamuk, F., Fernandes, D., Hasturk, H., Van Dyke, T.E., and Kantarci, A. (2018). Hypoxia-induced endothelial cell responses-possible roles during periodontal disease. *Clinical and experimental dental research 4*, 241-248.

187. Semenza, G.L., and Wang, G.L. (1992). A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Molecular and cellular biology 12*, 5447-5454.

188. Maxwell, P.H., Pugh, C.W., and Ratcliffe, P.J. (2001). Activation of the HIF pathway in cancer. *Current opinion in genetics & development 11*, 293-299.

189. Maynard, M.A., Evans, A.J., Shi, W., Kim, W.Y., Liu, F.-F., and Ohh, M. (2007). Dominant-negative HIF-3α4 suppresses VHL-null renal cell carcinoma progression. *Cell cycle 6*, 2810-2816.

190. Kaelin Jr, W.G., and Ratcliffe, P.J. (2008). Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. *Molecular cell 30*, 393-402.

191. Toker, H., Balci Yuce, H., Lektemur Alpan, A., Gevrek, F., and Elmastas, M. (2018). Morphometric and histopathological evaluation of the effect of grape seed proanthocyanidin on alveolar bone loss in experimental diabetes and periodontitis. *Journal of periodontal research 53*, 478-486.

192. Papandreou, I., Cairns, R.A., Fontana, L., Lim, A.L., and Denko, N.C. (2006). HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. *Cell metabolism 3*, 187-197.

193. Kim, J.-w., Tchernyshyov, I., Semenza, G.L., and Dang, C.V. (2006). HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell metabolism 3*, 177-185.

194. Feldser, D., Agani, F., Iyer, N.V., Pak, B., Ferreira, G., and Semenza, G.L. (1999). Reciprocal positive regulation of hypoxia-inducible factor 1α and insulin-like growth factor 2. *Cancer research 59*, 3915-3918.

195. Holmquist-Mengelbier, L., Fredlund, E., Löfstedt, T., Noguera, R., Navarro, S., Nilsson, H., Pietras, A., Vallon-Christersson, J., Borg, Å., and Gradin, K. (2006). Recruitment of HIF-1α and HIF-2α to common target genes is differentially regulated in neuroblastoma: HIF-2α promotes an aggressive phenotype. *Cancer cell 10*, 413-423.

196. Blouin, C.C., Pagé, E.L., Soucy, G.M., and Richard, D.E. (2004). Hypoxic gene activation by lipopolysaccharide in macrophages: implication of hypoxia-inducible factor 1α. *Blood 103*, 1124-1130.

197. Gonzalez, F.J., Xie, C., and Jiang, C. (2019). The role of hypoxia-inducible factors in metabolic diseases. *Nature reviews endocrinology 15*, 21-32.

198. Ikeda, E. (2005). Cellular response to tissue hypoxia and its involvement in disease progression. *Pathology international 55*, 603-610.

199. Rabie, T., and Marti, H.H. (2008). Brain protection by erythropoietin: a manifold task. *Physiology 23*, 263-274.

200. Zhou, J., Schmid, T., and Brune, B. (2003). Tumor necrosis factor-α causes accumulation of a ubiquitinated form of hypoxia inducible factor-1α through a nuclear factor-κB-dependent pathway. *Molecular biology of the cell 14*, 2216-2225.

201. Li, J.P., Li, F.Y., Xu, A., Cheng, B., Tsao, S.W., Fung, M.L., and Leung, W.K. (2012). Lipopolysaccharide and hypoxia-induced HIF-1 activation in human gingival fibroblasts. *Journal of periodontology 83*, 816-824.

202. Buduneli, N., and 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.

203. Ghallab, N.A. (2018). Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. *Archives of oral biology 87*, 115-124.

204. Ejeil, A.L., Gaultier, F., Igondjo-Tchen, S., Senni, K., Pellat, B., Godeau, G., and Gogly, B. (2003). Are cytokines linked to collagen breakdown during periodontal disease progression? *Journal of periodontology 74*, 196-201.

205. Booth, V., Young, S., Cruchley, A., Taichman, N., and Paleolog, E. (1998). Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *Journal of periodontal research 33*, 491-499.

206. Pradeep, A., Prapulla, D., Sharma, A., and Sujatha, P. (2011). Gingival crevicular fluid and serum vascular endothelial growth factor: their relationship in periodontal health, disease and after treatment. *Cytokine 54*, 200-204.

207. Steinbrech, D.S., Mehrara, B.J., Saadeh, P.B., Chin, G., Dudziak, M.E., Gerrets, R.P., Gittes, G.K., and Longaker, M.T. (1999). Hypoxia regulates VEGF expression and cellular proliferation by osteoblasts in vitro. *Plastic and reconstructive surgery 104*, 738-747.

208. Trebec-Reynolds, D.P., Voronov, I., Heersche, J.N., and Manolson, M.F. (2010). VEGF-A expression in osteoclasts is regulated by NF-κB induction of HIF-1α. *Journal of cellular biochemistry 110*, 343-351.

209. Haddad, J.J., and Harb, H.L. (2005). Cytokines and the regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1α. *International immunopharmacology 5*, 461-483.

210. Kim, K.W., Lee, S.J., and Kim, J.C. (2017). TNF-α upregulates HIF-1α expression in pterygium fibroblasts and enhances their susceptibility to VEGF independent of hypoxia. *Experimental eye research 164*, 74-81.

211. Chapple, C.C., Kumar, R.K., and Hunter, N. (2000). Vascular remodelling in chronic inflammatory periodontal disease. *Journal of oral pathology & medicine 29*, 500-506.

212. Dvorak, H.F., Brown, L., Detmar, M., and Dvorak, A. (1995). Review: vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am. J. pathol 146*, 1029-1039.

213. Shi, Q.-Y., Huang, S.-G., Zeng, J.-H., and Fang, X.-G. (2015). Expression of hypoxia inducible factor-1α and vascular endothelial growth factor-C in human chronic periodontitis. *Journal of dental sciences 10*, 323-333.

214. Gölz, L., Memmert, S., Rath-Deschner, B., Jäger, A., Appel, T., Baumgarten, G., Götz, W., and Frede, S. (2015). Hypoxia and P. gingivalis synergistically induce HIF-1 and NF-κB activation in PDL cells and periodontal diseases. *Mediators of inflammation 2015*.

215. Liu, K.Z., Duarte, P.M., Santos, V.R., Xiang, X., Xu, M., Miranda, T.S., Fermiano, D., Gonçalves, T.E.D., and Sowa, M.G. (2014). Assessment of tissue oxygenation of periodontal inflammation in smokers using optical spectroscopy. *Journal of clinical periodontology 41*, 340-347.

216. Agis, H., Watzek, G., and Gruber, R. (2012). Prolyl hydroxylase inhibitors increase the production of vascular endothelial growth factor by periodontal fibroblasts. *Journal of periodontal research 47*, 165-173.

217. Wu, Y., Cao, H., Yang, Y., Zhou, Y., Gu, Y., Zhao, X., Zhang, Y., Zhao, Z., Zhang, L., and Yin, J. (2013). Effects of vascular endothelial cells on osteogenic differentiation of noncontact co-cultured periodontal ligament stem cells under hypoxia. *Journal of periodontal research 48*, 52-65.

218. de Araújo, M.F., Etchebehere, R.M., de Melo, M.L.R., Beghini, M., Severino, V.O., de Castro Côbo, E., Rodrigues, D.B.R., and de Lima Pereira, S.A. (2017). Analysis of CD15, CD57 and HIF-1α in biopsies of patients with peri-implantitis. *Pathology-research and practice 213*, 1097-1101.

219. Song, Z.C., Zhou, W., Shu, R., and Ni, J. (2012). Hypoxia induces apoptosis and autophagic cell death in human periodontal ligament cells through HIF-1α pathway. *Cell proliferation 45*, 239-248.

220. Janjić, K., Cvikl, B., Kurzmann, C., Moritz, A., and Agis, H. (2018). Do hypoxia and L-mimosine modulate sclerostin and dickkopf-1 production in human dental pulp-derived cells? Insights from monolayer, spheroid and tooth slice cultures. *BMC oral health 18*, 1-9.

221. Janjić, K., Schellner, A., Engenhart, A., Kernstock, K., Schädl, B., Moritz, A., and Agis, H. (2019). Angiopoietin-like 4 production upon treatment with hypoxia and L-mimosine in periodontal fibroblasts. *Journal of periodontal research 54*, 489-498.

222. Xu, Q., Liu, Z., Guo, L., Liu, R., Li, R., Chu, X., Yang, J., Luo, J., Chen, F., and Deng, M. (2019). Hypoxia mediates runt-related transcription factor 2 expression via induction of vascular endothelial growth factor in periodontal ligament stem cells. *Molecules and cells 42*, 763.

223. Liu, Z., Guo, L., Li, R., Xu, Q., Yang, J., Chen, J., and Deng, M. (2019). Transforming growth factor-β1 and hypoxia inducible factor-1α synergistically inhibit the osteogenesis of periodontal ligament stem cells. I*nternational immunopharmacology 75*, 105834.

224. Huang, S., Lu, F., Zhang, Z., Yang, X., and Chen, Y. (2011). The role of psychologic stress-induced hypoxia-inducible factor-1α in rat experimental periodontitis. *Journal of periodontology 82*, 934-941.

225. Terrizzi, A.R., Conti, M.I., Martínez, M.P., and Fernández-Solari, J. (2018). The process of acclimation to chronic hypoxia leads to submandibular gland and periodontal alterations: an insight on the role of inflammatory mediators. *Mediators of inflammation 2018*.

226. Ebersole, J.L., Novak, M.J., Orraca, L., Martinez-Gonzalez, J., Kirakodu, S., Chen, K.C., Stromberg, A., and Gonzalez, O.A. (2018). Hypoxia-inducible transcription factors, HIF1A and HIF2A, increase in aging mucosal tissues. *Immunology 154*, 452-464.

227. Hirai, K., Furusho, H., Hirota, K., and Sasaki, H. (2018). Activation of hypoxia-inducible factor 1 attenuates periapical inflammation and bone loss. *International journal of oral science 10*, 1-10.

228. Yan, K., Lin, Q., Tang, K., Liu, S., Du, Y., Yu, X., and Li, S. (2020). Substance P participates in periodontitis by upregulating HIF-1α and RANKL/OPG ratio. *BMC oral health 20*, 27.

229. Saglam, E., Alinca, S.B., Celik, T.Z., Hacisalihoglu, U.P., and Dogan, M.A. (2020). Evaluation of the effect of topical and systemic ozone application in periodontitis: an experimental study in rats. *Journal of applied oral science 28*.

230. Taskan, M.M., Karatas, O., Balci Yuce, H., Isiker Kara, G., Gevrek, F., and Ucan Yarkac, F. (2019). Hypoxia and collagen crosslinking in the healthy and affected sites of periodontitis patients. *Acta odontologica scandinavica 77*, 600-607.

231. Karatas, O., Balci Yuce, H., Taskan, M.M., Gevrek, F., Lafci, E., and Kasap, H. (2019). Histological evaluation of peri-implant mucosal and gingival tissues in peri-implantitis, peri-implant mucositis and periodontitis patients: a cross-sectional clinical study. *Acta odontologica scandinavica*, 1-9.

232. Balci Yuce, H., Karatas, Ö., Tulu, F., Altan, A., and Gevrek, F. (2019). Effect of diabetes on collagen metabolism and hypoxia in human gingival tissue: a stereological, histopathological, and immunohistochemical study. *Biotechnic & histochemistry 94*, 65-73.

233. Akbulut, N., Karataş, Ö., Yuce, H.B., Akbulut, S., Altan, A., And Taşkan, M. Evaluation of vascular endothelial growth factor, hypoxia-inducible factor 1-alpha, and bacterial plaque composition in periodontal health and disease, with or without bruxism: A non-randomized clinical study. *Anatolian clinic the journal of medical sciences 26*, 207-215.

234. Carlile, J., Harada, K., Baillie, R., Macluskey, M., Chisholm, D., Ogden, G., Schor, S., and Schor, A. (2001). Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in oral tissues: possible relevance to angiogenesis, tumour progression and field cancerisation. *Journal of oral pathology & medicine 30*, 449-457.

235. Ryan, H.E., Poloni, M., McNulty, W., Elson, D., Gassmann, M., Arbeit, J.M., and Johnson, R.S. (2000). Hypoxia-inducible factor-1α is a positive factor in solid tumor growth. *Cancer research 60*, 4010-4015.

236. Ünlü, F., Güneri, P.G., Hekimgil, M., Yeşilbek, B., and Boyacioğlu, H. (2003). Expression of vascular endothelial growth factor in human periodontal tissues: comparison of healthy and diabetic patients. *Journal of periodontology 74*, 181-187.

237. Cudmore, M.J., Hewett, P.W., Ahmad, S., Wang, K.-Q., Cai, M., Al-Ani, B., Fujisawa, T., Ma, B., Sissaoui, S., and Ramma, W. (2012). The role of heterodimerization between VEGFR-1 and VEGFR-2 in the regulation of endothelial cell homeostasis. *Nature communications 3*, 1-12.

238. Devine, D.A., Marsh, P.D., and Meade, J. (2015). Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *Journal of oral microbiology 7*, 26941.

239. Du, R., Lu, K.V., Petritsch, C., Liu, P., Ganss, R., Passegué, E., Song, H., VandenBerg, S., Johnson, R.S., and Werb, Z. (2008). HIF1α induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer cell 13*, 206-220.

240. Cao, Y. (2014). VEGF-targeted cancer therapeutics—paradoxical effects in endocrine organs. *Nature reviews endocrinology 10*, 530-539.

241. Shaik-Dasthagirisaheb, Y., Varvara, G., Murmura, G., Saggini, A., Potalivo, G., Caraffa, A., Antinolfi, P., Tetè, S., Tripodi, D., and Conti, F. (2013). Vascular endothelial growth factor (VEGF), mast cells and inflammation. *International journal of immunopathology and pharmacology 26*, 327-335.

242. Nayak, S., Goel, M.M., Chandra, S., Bhatia, V., Mehrotra, D., Kumar, S., Makker, A., Rath, S., and Agarwal, S. (2012). VEGF-A immunohistochemical and mRNA expression in tissues and its serum levels in potentially malignant oral lesions and oral squamous cell carcinomas. *Oral oncology 48*, 233-239.

243. Niu, G., Wright, K.L., Huang, M., Song, L., Haura, E., Turkson, J., Zhang, S., Wang, T., Sinibaldi, D., and Coppola, D. (2002). Constitutive Stat3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis. *Oncogene 21*, 2000-2008.

244. Zhu, G.-q., Tang, Y.-l., Li, L., Zheng, M., Jiang, J., Li, X.-y., Chen, S.-x., and Liang, X.-h. (2010). Hypoxia inducible factor 1α and hypoxia inducible factor 2α play distinct and functionally overlapping roles in oral squamous cell carcinoma. *Clinical cancer research 16*, 4732-4741.

245. Niklander, S., Bordagaray, M.J., Fernández, A., and Hernández, M. (2021). Vascular endothelial growth factor: a translational view in oral non-communicable diseases. *Biomolecules 11*, 85.

246. Güneri, P., Ünlü, F., Yeşilbek, B., Bayraktar, F., Kokuludag, A., Hekimgil, M., and Boyaciolu, H. (2004). Vascular endothelial growth factor in gingival tissues and crevicular fluids of diabetic and healthy periodontal patients. *Journal of periodontology 75*, 91-97.

247. Sakallioğlu, E., Sakallioğlu, U., Lütfioğlu, M., Pamuk, F., and Kantarci, A. (2015). Vascular endothelial cadherin and vascular endothelial growth factor in periodontitis and smoking. *Oral diseases 21*, 263-269.

248. Kasprzak, A., Surdacka, A., Tomczak, M., Przybyszewska, W., Seraszek-Jaros, A., Malkowska-Lanzafame, A., Siodla, E., and Kaczmarek, E. (2012). Expression of angiogenesis-stimulating factors (VEGF, CD31, CD105) and angiogenetic index in gingivae of patients with chronic periodontitis. *Folia histochemica et cytobiologica 50*, 554-564.

249. Prapulla, D.V., Sujatha, P.B., and Pradeep, A. (2007). Gingival crevicular fluid VEGF levels in periodontal health and disease. *Journal of periodontology 78*, 1783-1787.

250. Johnson, R., Serio, F., and Dai, X. (1999). Vascular endothelial growth factors and progression of periodontal diseases. *Journal of periodontology 70*, 848-852.

251. Yılmaz Şaştım, Ç., Gürsoy, M., Könönen, E., Kasurinen, A., Norvio, S., Gürsoy, U.K., and Doğan, B. (2021). Salivary and serum markers of angiogenesis in periodontitis in relation to smoking. *Clinical oral investigations 25*, 1117-1126.

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

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

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

255. Offenbacher, S., Collins, J., and Heasman, P. (1993). Diagnostic potential of host response mediators. *Advances in dental research 7*, 175-181.

256. Chapple, I., Matthews, J., Thorpe, G., Glenwright, H., Smith, J., and Saxby, M. (1993). A new ultrasensitive chemiluminescent assay for the site-specific quantification of alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid. *Journal of periodontal research 28*, 266-273.

257. Wassall, R.R., and Preshaw, P.M. (2016). Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontology 2000 70*, 65-79.

258. Thaweboon, B., Laohapand, P., Amornchat, C., Matsuyama, J., Sato, T., Nunez, P., Uematsu, H., and Hoshino, E. (2010). Host β-globin gene fragments in crevicular fluid as a biomarker in periodontal health and disease. *Journal of periodontal research 45*, 38-44.

259. Bıyıkoğlu, B., Buduneli, N., Kardeşler, L., Aksu, K., Pitkala, M., and Sorsa, T. (2009). Gingival crevicular fluid MMP-8 and− 13 and TIMP-1 levels in patients with rheumatoid arthritis and inflammatory periodontal disease. *Journal of periodontology 80*, 1307-1314.

260. Emingil, G., Gürkan, A., Atilla, G., and Kantarci, A. (2011). Subantimicrobial-dose doxycycline and cytokine-chemokine levels in gingival crevicular fluid. *Journal of periodontology 82*, 452-461.

261. Keles, G., Cetinkaya, B., Isildak, I., Koprulu, H., and Acikgoz, G. (2006). Levels of platelet activating factor in gingival crevice fluid following periodontal surgical therapy. *Journal of periodontal research 41*, 513-518.

262. Fiorini, T., Susin, C., Da Rocha, J., Weidlich, P., Vianna, P., Moreira, C.H.C., Bogo Chies, J., Rösing, C.K., and Oppermann, R.V. (2013). Effect of nonsurgical periodontal therapy on serum and gingival crevicular fluid cytokine levels during pregnancy and postpartum. *Journal of periodontal research 48*, 126-133.

263. Reen, D.J. (1994). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Methods mol biol 32*, 461-466.

264. Obeid, P., and Bercy, P. (2000). Effects of smoking on periodontal health: a review. *Advances in therapy 17*, 230-237.

265. Yücesoy, V., and Baloş, K. (1998). Sigara içen ve içmeyen bireylerde periodontal durum ve tedavi ihtiyacının değerlendirilmesi. *Gazi üniversitesi diş hekimliği fakültesi dergisi 15*, 81-87.

266. Scott, D., Palmer, R., and Stapleton, J. (2001). Validation of smoking status in clinical research into inflammatory periodontal disease. *Journal of clinical periodontology 28*, 715-722.

267. Yaman, D. Sigara içme ve periodontal hastalık arasındaki ilişkinin serum kotinin seviyesine göre incelenmesi. (Doktora Tezi) İstanbul-2004.

268. Javed, F., Abduljabbar, T., Vohra, F., Malmstrom, H., Rahman, I., and Romanos, G.E. (2017). Comparison of periodontal parameters and self-perceived oral symptoms among cigarette smokers, individuals vaping electronic cigarettes, and never-smokers. *Journal of periodontology 88*, 1059-1065.

269. da Silva, A.M., Newman, H., Oakley, D., and O'leary, R. (1998). Psychosocial factors, dental plaque levels and smoking in periodontitis patients. *Journal of clinical periodontology 25*, 517-523.

270. Sheiham, A. (1971). Periodontal disease and oral cleanliness in tobacco smokers. *Journal of periodontology 42*, 259-263.

271. Alexander, A. (1970). The relationship between tobacco smoking calculus and plaque accumulation and gingivitis. *Dental health 9*, 6-9.

272. Ryder, M.I. (2007). The influence of smoking on host responses in periodontal infections. *Periodontology 2000 43*, 267-277.

273. Dietrich, T., Bernimoulin, J.P., and Glynn, R.J. (2004). The effect of cigareté smoking on gingival bleeding. *Journal of periodontology 75*, 16-22.

274. Yilmaz, M., Yay, E., Atalay, N., Balci, N., Kurgan, Ş., Toygar, H., and Serdar, M.A. (2022). Do arginine metabolites have a role in periodontitis due to smoking? A new perspective. *Oral diseases*.

275. Egelberg, J. (1966). Permeability of the dento-gingival blood vessels: III. Chronically inflamed gingivae. *Journal of periodontal research 1*, 287-296.

276. Özkavaf, A., Aras, H., Huri, C.B., Mottaghian-Dini, F., Tözüm, T.F., Etikan, I., Yamalik, N., and Çaglayan, F. (2000). Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *Journal of oral science 42*, 231-238.

277. Hancock, E., Cray, R., and O'leary, T. (1979). The relationship between gingival crevicular fluid and gingival inflammation: A clinical and histologic study. *Journal of periodontology 50*, 13-19.

278. Griffiths, G., Sterne, J., Wilton, J., Eaton, K., and Johnson, N. (1992). Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents. *Journal of clinical periodontology 19*, 464-470.

279. Gomes, S.C., Piccinin, F.B., Oppermann, R.V., Susin, C., and Marcantonio, R.A.C. (2009). The effect of smoking on gingival crevicular fluid volume during the treatment of gingivitis. *Acta odontológica latinoamericana 22*, 201-206.

280. Mokeem, S., Vellappally, S., Preethanath, R., Hashem, M., Al-Kheraif, A., and Anil, S. (2014). Influence of smoking on clinical parameters and gingival crevicular fluid volume in patients with chronic periodontitis. *Oral health and dental management 13*, 469-473.

281. Luthra, K., Grover, H.S., Aggarwal, N., and Luthra, S. (2012). Smoking swings of gingival crevicular fluid secretion. *Journal of indian society of periodontology 16*, 101.

282. Lin, S.-J., Chen, Y.-L., Kuo, M.Y.-B., Li, C.-L., and Lu, H.-K. (2005). Measurement of gp130 cytokines–Oncostatin M and IL-6 in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis. *Cytokine 30*, 160-167.

283. Lamster, I.B., Oshrain, R.L., Fiorello, L.A., Celenti, R.S., and Gordon, J.M. (1988). A comparison of 4 methods of data presentation for lysosomal enzyme activity in gingival crevicular fluid. *Journal of clinical periodontology 15*, 347-352.

284. Mastrangelo, F., Dedola, A., Cattoni, F., Ferrini, F., Bova, F., Tatullo, M., Gherlone, E., and Lo, L. (2018). Etiological periodontal treatment with and without low-level laser therapy on IL-1β level in gingival crevicular fluid: An in vivo multicentric pilot study. *J. biol. regul. homeost. agents 32*, 425-431.

285. Ye, T., He, F., Lu, L., Miao, H., Sun, D., Zhang, M., Yang, H., Zhang, J., Qiu, J., and Zhao, H. (2020). The effect of oestrogen on mandibular condylar cartilage via hypoxia-inducible factor-2α during osteoarthritis development. *Bone 130*, 115123.

286. Romano, F., Del Buono, W., Bianco, L., Arena, M., Mariani, G.M., Di Scipio, F., Berta, G.N., and Aimetti, M. (2020). Gingival crevicular fluid cytokines in moderate and deep sites of stage iii periodontitis patients in different rates of clinical progression. *Biomedicines 8*, 515.

287. Cetinkaya, B.O., Keles, G.C., Ayas, B., Sakallioglu, E.E., and Acikgoz, G. (2007). The expression of vascular endothelial growth factor in a rat model at destruction and healing stages of periodontal disease. *Journal of periodontology 78*, 1129-1135.

288. Suthin, K., Matsushita, K., Machigashira, M., Tatsuyama, S., Imamura, T., Torii, M., and Izumi, Y. (2003). Enhanced expression of vascular endothelial growth factor by periodontal pathogens in gingival fibroblasts. *Journal of periodontal research 38*, 90-96.

289. Gerber, H.-P., Vu, T.H., Ryan, A.M., Kowalski, J., Werb, Z., and Ferrara, N. (1999). VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nature medicine 5*, 623-628.

290. Eren, G., Türkoğlu, H.O., Atmaca, H., and Atilla, F.G. (2015). Evaluation of GCF MMP-1, MMP-8, TGF-ß1, PDGF-AB, and VEGF levels in periodontally healthy smokers. *Turkish journal of medical sciences 45*, 850-856.

291. Türer, Ç.C., Durmuş, D., Balli, U., and Güven, B. (2017). Effect of non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid and serum endocan, vascular endothelial growth factor-A, and tumor necrosis factor-alpha levels. *Journal of periodontology 88*, 493-501.

292. Gündogar, H., Üstün, K., Şenyurt, S.Z., Özdemir, E.Ç., Sezer, U., and Erciyas, K. (2021). Gingival crevicular fluid levels of cytokine, chemokine, and growth factors in patients with periodontitis or gingivitis and periodontally healthy subjects: a cross-sectional multiplex study. *Central european journal of immunology 46*.

293. Loboda, A., Stachurska, A., Florczyk, U., Rudnicka, D., Jazwa, A., Wegrzyn, J., Kozakowska, M., Stalinska, K., Poellinger, L., and Levonen, A.L. (2009). HIF-1 induction attenuates Nrf2-dependent IL-8 expression in human endothelial cells. *Antioxidants & redox signaling 11*, 1501-1517.

294. Florczyk, U., Czauderna, S., Stachurska, A., Tertil, M., Nowak, W., Kozakowska, M., Poellinger, L., Jozkowicz, A., Loboda, A., and Dulak, J. (2011). Opposite effects of HIF-1α and HIF-2α on the regulation of IL-8 expression in endothelial cells. *Free radical biology and medicine 51*, 1882-1892.

295. Loboda, A., Jazwa, A., Jozkowicz, A., Molema, G., and Dulak, J. (2006). Angiogenic transcriptome of human microvascular endothelial cells: effect of hypoxia, modulation by atorvastatin. *Vascular pharmacology 44*, 206-214.

296. Cummins, E.P., Seeballuck, F., Keely, S.J., Mangan, N.E., Callanan, J.J., Fallon, P.G., and Taylor, C.T. (2008). The hydroxylase inhibitor dimethyloxalylglycine is protective in a murine model of colitis. *Gastroenterology 134*, 156-165. e151.

297. Wan, C., Gilbert, S.R., Wang, Y., Cao, X., Shen, X., Ramaswamy, G., Jacobsen, K.A., Alaql, Z.S., Eberhardt, A.W., and Gerstenfeld, L.C. (2008). Activation of the hypoxia-inducible factor-1α pathway accelerates bone regeneration. *Proceedings of the national academy of sciences 105*, 686-691.

298. Weidemann, A., and Johnson, R.S. (2008). Biology of HIF-1alpha. *Cell death differ 15*, 621-627.

299. Bosshardt, D.D., and Sculean, A. (2009). Does periodontal tissue regeneration really work? *Periodontology* 2000 *51*, 208-219.

300. Tandara, A.A., and Mustoe, T.A. (2004). Oxygen in wound healing-more than a nutrient. *World journal of surgery 28*, 294-300.

301. Sabatini, S., Ricci, M., Candotto, V., Lauritano, D., and Nardi, G. (2017). Effects of the application of high-pressure oxygen on the treatment of periodontal disease in diabetic patients. *Oral & implantology 10*, 412.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 04.06.2020-E.13192

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

Sayı : 21071282-050.99-
Konu : Etik Kurul

Sayın Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR
Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanlığına

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna, etik açıdan değerlendirmek üzere göndermiş olduğunuz "Periodontitis ve Sigaranın Dişeti Oluğu Sıvısı Hipoksi İle İndüklenen Faktör Seviyelerine Etkisi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU
Kurul Başkanı

Önemli Not: Sağlık Bakanlığına başvuruda bulunacak çalışmaların, Kurulumuz tarafından incelenmiş ve onaylanmış **"Değerlendirilen Belgeler"** kısmında belirtilmiş olan **Tarih ve Versiyon/Revizyon numaralarının** 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.

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

Evrakı Doğrulamak İçin: 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
Pin: 03322
Bilgi için :N. Cihan Ünay
Birim Evrak Sorumlusu
Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır. (Pin:03322)

EK-1. (devam) Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR tarafından gönderilen "Periodontitis ve Sigaranın Dişeti Oluğu Sıvısı Hipoksi İle İndüklenen Faktör Seviyelerine Etkisi" 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 41 38
	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	Periodontoloji Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Diş Hek. Fak.			
	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. Nur MOLLAOĞLU
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 "Periodontitis ve Sigaranın Dişeti Oluğu Sıvısı Hipoksi İle İndüklenen Faktör Seviyelerine Etkisi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	27.05.2020	VERSİYON 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	27.05.2020	VERSİYON 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	27.05.2020	VERSİYON 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	-	-	Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	27.05.2020 - VERSİYON 1
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: GÜDHKAEK.2020.12/1**	**Tarih: 04.06.2020**	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşımı 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. Nur MOLLAOĞLU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım	
Prof. Dr.Tayfun ALAÇAM	Endodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU (Etik Kurul Başkanı)	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
Prof. Dr. Hülya ERTEN	Restoratif Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
Prof. Dr. Kahraman GÜNGÖR	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	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. Mesut Enes ODABAŞ	Pedodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
Prof. Dr. Orhan Mecit ULUDAĞ	Farmakoloji	Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
Doç. Dr. Ferhan EĞİLMEZ (Bildirimlerden sorumlu olan üye)	Protetik Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU
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 "Periodontitis ve Sigaranın Dişeti Oluğu Sıvısı Hipoksi İle İndüklenen Faktör Seviyelerine Etkisi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR (Etik kurul başkan yardımcısı)	Periodontoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
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. Nur MOLLAOĞLU
İmza:

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

EK-2. Bilgilendirilmiş Hasta Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (Versiyon 1/27.05.2020)

Araştırmanın Adı: ‘‘Periodontitis ve Sigaranın Dişeti Oluğu Sıvısı Hipoksi İle İndüklenen Faktör Seviyelerine Etkisi ’’

Danışman Öğretim Görevlisi: Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR

Sorumlu Araştırmacı Adı: Dt. Bejna BOZYEL

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı’nda yürütülmekte olan ‘‘Periodontitis ve Sigaranın Dişeti Oluğu Sıvısı Hipoksi İle İndüklenen Faktör Seviyelerine Etkisi’’ konulu araştırma amaçlı tez çalışmasına katılmanız istenmektedir.

Bu çalışmada periodontitis ve sigara kullanımının, dişi çevreleyen dişeti oluğunun içerisindeki sıvıda bulunan hipoksik (düşük oksijen seviyelerinde gözlenen) faktör (belirteç) seviyelerine etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Çalışma kapsamında dişeti sağlığınızın durumunu tespit etmek amacıyla dişlerinizin çevresinden ağrıya yol açmayacak şekilde ölçümler yapılacak ve küçük steril kağıtlar dişeti oluğu içerisine yerleştirilerek dişeti oluğu sıvısı örnekleri toplanacaktır. Çalışmaya katılımınız, ölçümler ve örnekler alındıktan sonra son bulup size çalışma kapsamında herhangi başka bir müdahale yapılmayacaktır. Dişeti sağlığınız 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, Doç. 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 meslektaşlarımız tarafından olumsuz bir davranışla karşılaşmayacaksınız. Çalışmaya katılmanız sonucu herhangi bir mali yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

Dişeti çevresindeki sıvıda bulunan oksijen seviyelerindeki değişiklikleri gösteren belirteçlerin tespiti için, dişinizin çevresindeki sıvı, küçük steril kağıt şeritler ile toplanacaktır. Daha sonra aldığımız bu kağıtların içine emdirilmiş sıvı örnekler; küçük, plastik kutularda değerlendirilmesi yapılana kadar tarafımızca saklanacaktır. Saklanan örneklere tarafımız dışında başka herhangi bir kişinin ulaşması ve müdahalede bulunması mümkün değildir.

Bu çalışmada sizinle ilgili doğabilecek çalışmaya bağlı herhangi bir risk bulunmamaktadır. Örneklerin alınmasını takiben gerekli rutin tedavileriniz kliniğimizce sürdürülecektir. Çalışmayla ilgili ek bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Örneklerin incelenmesi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında yapılacaktır.

EK-2. (devam) Bilgilendirilmiş Hasta Onam Formu

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. Bejna BOZYEL'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. Bejna BOZYEL tarafından bana açıklanmıştır.

Tarih:

Gönüllünün;	Bilgilendirmeyi Yapan Hekimin:
Adı Soyadı:	Adı Soyadı:
İmza:	İmza:

EK-3. Anamnez Formu

(Versiyon.1/27.05.2020)

Anamnez Formu

Çalışma Grubu:

Hasta No:

DOS Örnek Bölgesi:

Doğum Tarihi:

Cinsiyet:

Daha önce periodontal tedavi görmüş/En son ne zaman? : □ Evet ( )
□ Hayır

OHE verilmiş: □ Evet □ Hayır

Diş fırçalama sıklığı:

Arayüz temizliği sıklığı:

Sistemik Anamnez:

□ Kalp hastalığı □ Hipertansiyon
□ Diyabet □ Kanama problemi
□ Hepatit □ HIV
□ İlaç alerjisi □ Diğer

İlaç kullanımı:

Sigara Kullanımı: : □ Evet □ Hayır

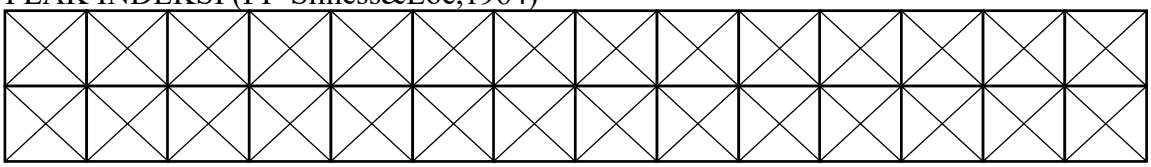
Yıl:

Günlük Adet:

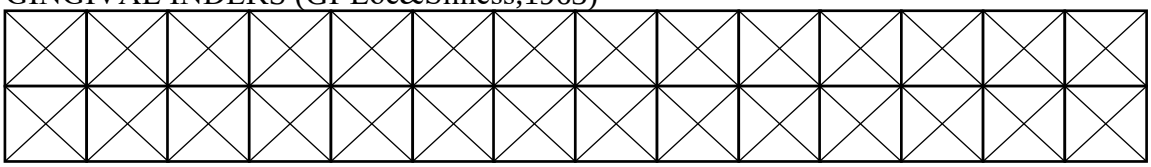
EK-4. Periodontal İndeks Formu

Hasta No:
Tarih:

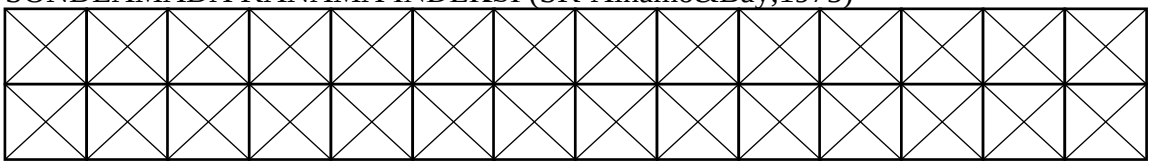
PLAK İNDEKSİ (Pİ- Silness&Löe,1964)



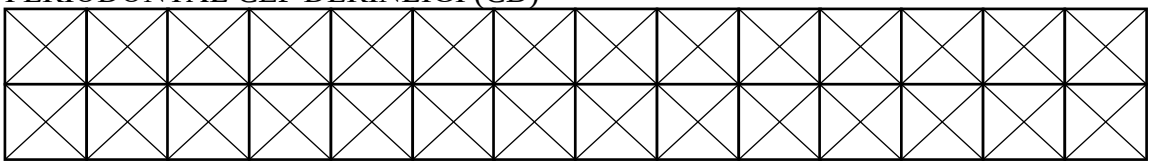
GİNGİVAL İNDEKS (Gİ-Löe&Silness,1963)



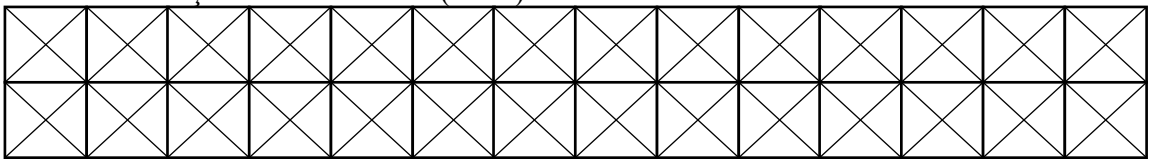
SONDLAMADA KANAMA İNDEKSİ (SK-Ainamo&Bay,1975)



PERİODONTAL CEP DERİNLİĞİ (CD)



KLİNİK ATAŞMAN SEVİYESİ (KAS)



Tüp No	İlk Tartım	Son Tartım	ELISA HIF-1 α Seviyesi	ELISA HIF-2α Seviyesi	ELISA HIF-3α Seviyesi	ELISA VEGF Seviyesi

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : BOZYEL, Bejna

Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Periodontoloji Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Orta Doğu Teknik Üniversitesi / İktisat Bölümü	Devam Ediyor
Lisans	Dicle Üniversitesi / Diş Hekimliği Fakültesi	2016
Ön Lisans	Anadolu Üniversitesi / Sağlık Kurumları İşletmeciliği	2018
Lise	Mersin Fen Lisesi	2011

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2017-2019	Özel Dicle-Fırat Ağız Diş Sağlığı Polikliniği	Diş Hekimi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Değer Y, Adigüzel Ö, Yiğit Özer S, Kaya S, Seyfioğlu Polat Z, Bozyel B. Evaluation of Temperature and Stress Distribution on 2 Different Post Systems Using 3-Dimensional Finite Element Analysis. Med Sci Monit. 2015 Nov 29;21:3716-172. doi: 10.12659/msm.896132. PMID: 26615495; PMCID: PMC4671455

2. Bakhishov, H., Isler, S. C., Bozyel, B., Yıldırım, B., Tekindal, M. A., & Ozdemir, B. (2021). De-epithelialized gingival graft versus subepithelial connective tissue graft in the treatment of multiple adjacent gingival recessions using the tunnel technique: 1-year results of a randomized clinical trial. *Journal of clinical periodontology*, 10.1111/jcpe.13452. Advance online publication. https://doi.org/10.1111/jcpe.13452

B. Yazılan ulusal/uluslararası kitaplar veya kitaplardaki bölümler

1. Bozyel B, Kalkan AÇ, Özdemir B. Diyabet-periodontal hastalık ilişkisine mikrobiyal yaklaşım. Ünsal FB, editör. Periodontal ve Sistemik Hastalıklarda Mikrobiyal Etkileşim. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020. p.16-24.

2. Kalkan Ç, Bozyel B, Özdemir B. Periodontolojide antibiyotik kullanımına güncel yaklaşımlar. Alpaslan C, editör. Diş Hekimliğinde Kanıta Dayalı İlaç Kullanımı. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.48-60.

C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Bozyel, B., Kalkan, A., Özdemir, B.. (2021). The Role of Hypoxia in Periodontal Diseases. Journal of Gazi University Health Sciences Institute, 3 (1), 36-44. Retrieved from https://dergipark.org.tr/tr/pub/guhes/issue/62239/885997

D. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler

1. Bozyel B., Adıgüzel A., Falakaloğlu S., Adıgüzel Ö. (2015, Mayıs) Lezyonlu anterior bir dişte periapikal iyileşme: Olgu Sunumu. TDB. 21. Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi, İstanbul, Türkiye. (Yayın No: P-39)

2. Bozyel B. (2017, Eylül) Periapikal lezyonlu bir dişin tedavisi ve devital beyazlatma sonrası estetik restorasyon. TDB 23. Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi, İstanbul, Türkiye.

3. Bozyel B. (2017, Eylül) Kanal tedavisinin yenilenmesiyle beraber lezyon tedavisi: 2 olgu sunumu. TDB 23. Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi, İstanbul, Türkiye.

4. Bakhishov H., Bozyel B., Özdemir B., (2018, Eylül). İleri derecede atrofik mandibular bölgenin rehabilitasyonu: Olgu sunumu. TDB 24. Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi, Ankara, Türkiye.

5. Bakhishov H., Bozyel B., Özdemir B. (2018, Kasım). Splıt Technıque Soft Tıssue Augmentatıon On The Rehabılıtatıon Of A Severe Atrophıc Posterior Mandıbular Area. 3rd EstePerio International Congress of Periodontology Esthetic Dentistry /2018 (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:4611958)

6. Bakhishov Hikmat, Bozyel Bejna, Özdemir Burcu (2019, Nisan). Evaluation of De-epithelialized Free Gingival Graft on treatment of multiple gingival recessions with Tunnel technique. RCT. Osteology Symposium Barcelona

7. Bakhishov Hikmat, İşler Sıla Çağrı, Bozyel Bejna, Yıldırım Benay, Tekindal Mustafa Agah, Özdemir Burcu (2019). Tünel Teknigi ile Birlikte Kullanılan De-Epitelize Serbest Diseti Grefti ve Subepitelyal Bag Dokusu Greftinin Çoklu Diseti Çekilmelerinin Tedavisinde Karsılastırılması: Histolojik Değerlendirme ve 1 Yıllık Randomize Klinik Kontrollü Çalışma. Türk Periodontoloji Derneği 49. Uluslararası Bilimsel Kongresi ve 28. Bilimsel Sempozyumu (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:5412946)

8. Bozyel Bejna, Doğan Özlem, Ülkar Elgün Serenay, Özdemir Burcu (2022) Sigaranin hipoksi ile indüklenebilir faktör seviyelerine etkisi - Effect of smoking on hypoxia inducible factor levels. Türk Periodontoloji Derneği 51. Uluslararası Bilimsel Kongresi ve 29. Bilimsel Sempozyumu (Sözlü Sunum)

Yer Alınan Bilimsel Projeler

1. Periodontitis ve Sigaranın Dişeti Oluğu Sıvısı Hipoksi ile İndüklenen Faktör Seviyelerine Etkisi - Gazi Üniversitesi BAP - 03/2020-15 - Araştırmacı

2. Tükürük İçerisindeki Enflamatuvar Belirteç Seviyelerinin Sirkadiyen Ritim ile İlişkisinin İncelenmesi - Gazi Üniversitesi BAP - TDH-2022-7427 – Araştırmacı

Bilimsel ve Mesleki Kuruluşlara Üyelikler

1. Türk Periodontoloji Derneği (TPD)

2. European Federation of Periodontology (EFP)

3. Türk Dişhekimleri Birliği (TDB)

Diğer Bilimsel Faaliyetler

Burslar

1. YÖK 100/2000 Doktora Bursu 2018-2022

2. TÜBİTAK Bilim İnsanları Destek Programları Başkanlığı, 2211-A Genel Yurtiçi Doktora Burs Programı 2020-

Hobiler

Müzik, Pilates, Voleybol, Seyahat



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...