

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA PROGRAMI

**KRONİK PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE SİGARA KULLANIMININ, SERUM
VE TÜKÜRÜK TOTAL ANTIOKSİDAN KAPASİTE, TOTAL OKSİDATİF DURUM
VE LİPİD PEROKSİDASYON DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Özlem SARAÇ ATAGÜN

TRABZON-2011

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

KRONİK PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE SİGARA KULLANIMININ, SERUM VE
TÜKÜRÜK TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE, TOTAL OKSİDATİF DURUM VE
LİPİD PEROKSİDASYON DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Arş. Gör.Dt. Özlem SARAÇ ATAGÜN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 13. 05. 2011

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 24. 06. 2011

Tezin Danışmanı : Doç. Dr. Esra BALTACIOĞLU

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Cenk Fatih ÇANAKÇI

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Figen Çizmeçi ŞENEL

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Kürşat ER

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Bora BAĞIŞ

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Ahmet KALKAN

MAYIS,2011

TRABZON

İÇİNDEKİLER

	İçindekiler	I
	Önsöz	IV
	Kısaltmalar	V
1	GİRİŞ ve AMAÇ	1
2	GENEL BİLGİLER	3
2.1	Periodontitis	3
2.1.1	Kronik Periodontitis	4
2.2	Periodontal Hastalık Patogenezi	6
2.3	Periodontal Hastalık Aktivitesi	8
2.4	Tükürük	9
2.5	Serum	10
2.6	Oksijen ve Serbest Radikaller	11
2.6.1	Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları	12
2.7	Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve Etki Mekanizmaları	13
2.7.1	Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)	14
2.7.2	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	15
2.7.3	Hidroksil Radikali (OH^{\cdot})	17
2.7.4	Hipoklorik Asit ($HOCl$)	18
2.7.5	Singlet Oksijen (1O_2)	18
2.7.6	Peroksil Radikalleri (ROO^{\cdot})	19
2.7.7	Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)	19
2.8	Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları	21
2.9	Serbest Radikaller ve Hücrel Hasar	23
2.9.1	Total Oksidatif Durum	24
2.9.2	Lipid Peroksidasyonu	25
2.9.3	DNA Hasarı	27
2.9.4	Protein Hasarı	29
2.10	Antioksidanlar	29
2.10.1	Antioksidanların Sınıflandırılması	29
2.10.2	Enzimatik Antioksidanlar	32
2.10.2.1	Süperoksit Dismutaz	32
2.10.2.2	Glutasyon Peroksidaz	33
2.10.2.3	Katalaz	33
2.10.3	Enzim Olmayan Antioksidanlar	34
2.10.3.1	Askorbik Asit (C Vitamini)	34
2.10.3.2	α -Tokoferol (E Vitamini)	35

2.10.3.3	Karotenoidler	36
2.10.3.4	Glutasyon	36
2.10.3.5	Ürik Asit	37
2.10.3.6	Melatonin	38
2.10.3.7	Sistein	38
2.10.3.8	Albümin	39
2.10.3.9	Seruloplazmin	39
2.10.3.10	Haptoglobin	39
2.10.3.11	Transferrin ve Laktoferrin	39
2.10.3.12	Bilirubin	40
2.10.3.13	Ferritin	40
2.10.4	Diğer Antioksidanlar	40
2.10.4.1	Koenzim Q	40
2.10.4.2	Retinoidler	40
2.10.5	Total Antioksidan Kapasite	40
2.11	Periodontal Doku Yıkımında Reaktif Oksijen Türlerinin Rolü	41
2.11.1	Periodontitiste Nötrofiller Tarafından ROT Üretimi ve Oksidatif Stres	41
2.11.2	Total Oksidatif Durum ve Periodontitis	44
2.11.3	Lipid Peroksidasyonu ve Periodontitis	44
2.12	Antioksidanlar ve Periodontitis	45
2.12.1	Periodontal Hastalıkta Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidan Düzeyleri	45
2.12.2	Periodontal Hastalıkta Total Antioksidan Kapasitenin Değerlendirilmesi	45
2.13	Sigara ve Periodontal Hastalık	46
2.13.1	Sigaranın Periodontal Hastalığın Şiddeti ve Prevelansı Üzerindeki Etkileri	46
2.13.2	Sigaranın Periodontal Hastalığın Etyolojisi ve Patogenezi Üzerindeki Etkileri	47
2.13.2.1	Mikrobiyolojik Etkileri	47
2.13.2.2	İmmünolojik Etkileri	47
2.13.2.3	Periodontal Tedavi Üzerindeki Etkileri	48
2.14	Sigara, Oksidatif Stres ve Antioksidan Kapasite	49
3	MATERYAL VE METOD	51
3.1	Çalışma Gruplarının Belirlenmesi ve Klinik Çalışmalar	51
3.1.1	Çalışmaya Dahil Edilen Bireylerde Aranılan Kriterler	51
3.1.2	Çalışma Gruplarının Seçimi	51
3.1.3	Hastaların Periodontal Durumlarının Belirlenmesi	52
3.1.3.1	Periodontal Cep Derinliği ve Klinik Ataçman Düzeyi Ölçümleri	52
3.1.3.2	Gingival İndeks	52
3.1.3.3	Kanama İndeksi	53
3.1.3.4	Plak İndeksi	53
3.1.3.5	Radyografik Değerlendirmeler	53
3.1.4	Hastaların Sigara Kullanım Miktarlarının Belirlenmesi	53
3.1.5	Örnekleme İşlemleri	54
3.1.5.1	Tükürük Örnekleri	54

3.1.5.2	Serum Örnekleri	54
3.2	Laboratuar Çalışmaları	54
3.2.1	Tükürük Kotinin Düzeylerinin Belirlenmesi	54
3.2.1.1	Kullanılan Reaktifler ve Cihazlar	55
3.2.1.2	Çalışma Prosedürü	55
3.2.2	Total Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi	56
3.2.3	Total Oksidatif Durumun Belirlenmesi	58
3.2.4	Serum Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi	59
3.2.5	Tükürük Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi	61
3.2.6.	Serum ve Tükürük Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Ölçülmesi	62
3.3	İstatistiksel Analizler	62
4	BULGULAR	63
4.1	Demografik Bulgular	63
4.2	Klinik Bulgular	65
4.3	Laboratuar Bulguları	65
4.4	Korelasyonlar	73
4.4.1	Tüm bireyler için klinik parametreler ile laboratuar parametrelerinin korelasyonları	73
4.4.2	Tüm bireyler için laboratuar parametrelerinin korelasyonları	73
4.4.3	S+P+ grubu için klinik parametreler ile laboratuar parametrelerinin korelasyonları	75
4.4.4	S-P+ grubu için klinik parametreler ile laboratuar parametrelerinin korelasyonları	76
4.4.5	S+P- grubu için klinik parametreler ile laboratuar parametrelerinin korelasyonları	77
4.4.6	S-P- grubu için klinik parametreler ile laboratuar parametrelerinin korelasyonları	77
5	TARTIŞMA	78
6	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	96
7	ÖZET	98
8	İNGİLİZCE ÖZET	99
9	KAYNAKLAR	100
	Boş Sayfa	
10	ÖZGEÇMİŞ	

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince bilgisi, hoşgörüsü ve içtenliği ile her zaman yanımda olan, hiçbir konuda benden yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam Doç. Dr. Esra Baltacıoğlu'na sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin laboratuvar aşamalarını büyük bir özveri ile gerçekleştiren ve bilgi ve fikirleriyle desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Ahmet Alver'e ve tezimin laboratuvar aşamasında sağladığı yardımlardan ötürü Öğr. Gör. Dr. Fulya Balaban Yücesan'a,

Sağladıkları güzel çalışma ortamı ve bana kazandırdıkları herşey için tüm hocalarıma,

Güzel bir çalışma dönemi geçirmemi sağlayan, destekleri ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarıma,

Yaşamım boyunca sabırları, özverileri ve destekleri ile hep yanımda olan sevgili aileme ve

Mesafelere rağmen desteğini hep yanımda hissettiğim, beni beklemekten hiç vazgeçmeyen sevgili eşim Burak Atagün'e,

Tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Dt. Özlem SARAÇ ATAGÜN

KISALTMALAR ve SİMGELER

$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
4-HDA	4-hidroksialkenal
8-epi-PGF 2α	8-isoprostane
8-OHdG	8-hidroksideoksiguanozin
Aa	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
AIDS	Edinilmiş Bağışıklık Yetersizliği Sendromu
ATP	Adenozin Trifosfat
CoQ10	Koenzim Q
CuZn SOD	Bakır çinko içeren SOD
DNA	Deoksiribonükleik asit
DOS	Dişeti oluğu sıvısı
EC-SOD	Ekstraselüler SOD
eGPx	Plazma glutatyon peroksidaz
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz
ESM	Ekstraselüler matriks
ETS	Elektron transport sistemi
FADH $_2$	Flavin adenin dinükleotid
Fc γ R	Fc γ -reseptör
Fe	Demir
Fe SOD	Demir içeren SOD
Fe $^{+2}$	Ferröz iyon
Fe $^{+3}$	Ferrik iyon
GPx	Glutatyon Peroksidaz
GSH	Glutatyon
H $_2$ O	Su
H $_2$ O $_2$	Hidrojen peroksit
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HOCl	Hipoklorik asit
HOO \cdot	Hidroperoksil radikali
Ig	İmmünglobulin
IL	İnterlökin
iNOS	İndüklenbilir nitrik oksit sentaz
L \cdot	Lipid serbest radikali
LOO \cdot	Lipid peroksit radikali

LOOH	Lipid hidroperoksid
LPO	Lipid peroksidasyonu
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
MLT	Melatonin
MMP	Matriks metalloproteinazlar
Mn SOD	Manganez içeren SOD
MPO	Myeloperoksidaz
mRNA	Mesajcı RNA
mtDNA	Mitokondriyal DNA
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
NO ₂	Nitrojen dioksit
NOSs	Nitrik oksit sentazlar
NUG	Nekrotizan ülseratif gingivitis
NUP	Nekrotizan ülseratif periodontitis
O ₂	Moleküler oksijen
O ₂ ^{•-}	Süperoksit
OH [•]	Hidroksil
ONOO ⁻	Peroksinitrit
PAF	Platelet Aktivasyon Faktörü
PDL	Periodontal ligament
PG	Prostaglandin
PMNL	Polimorfonükleer Lökositler
RKT	Reaktif karbonil türleri
RNT	Reaktif Nitrojen Türleri
ROO [•]	Peroksil
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TAOK	Total Antioksidan Kapasite
Th1	T helper
TIMP	Matriks metallo-proteinaz doku inhibitörleri
TLR	Toll-like Reseptör
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
TOD	Total Oksidatif Durum

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Sigaranın periodontal hastalığın insidansı ve ilerlemesinde, bakteriyel plaktan sonra en güçlü modifiye edilebilir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda sigara, nötrofil fonksiyonunda ve sitokin ve büyüme faktörü üretiminde değişikliklere, antikor üretimi ve fibroblast aktivitelerinde inhibisyona, kollajen üretimi ve vaskülaritede azalmaya neden olarak periodontal dokularda hasar oluşturabilmektedir (1, 2).

Reaktif Oksijen Türleri (ROT), DNA hasarı, lipid peroksidasyonu (LPO), protein hasarı, önemli enzimlerin oksidasyonu ve pro-inflamatuar sitokin salınımının stimülasyonu gibi çeşitli mekanizmalarla doku yıkımına neden olabildiği gibi, periodontitisin de dahil olduğu çok sayıda iltihabi hastalığın patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Tüm canlı organizmalarda, ROT'un zararlı etkilerine karşı koruyucu antioksidan savunma sistemleri geliştirilmiştir (3, 4). Normal fizyolojide, ROT aktivitesi ile antioksidan savunma kapasitesi arasında dinamik bir denge vardır. Ancak, antioksidan savunmadaki azalma ve/veya ROT üretim veya aktivitesindeki değişimler sonucunda oksidatif stres meydana gelmekte ve hücrelerin önemli bileşenlerinde hasar oluşabilmektedir (5, 6). Her ne kadar oksidatif stresin, ilişkili hastalıkların nedeni mi olduğu veya sonucu mu meydana geldiği tam olarak bilinmemese de, oksidatif stres tayininin çeşitli hastalıkların patojenik mekanizmalarının aydınlığa kavuşturulması açısından önemli olduğu düşünülmektedir (3). Oksidatif stresin belirlenmesinde; enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar, total antioksidan kapasite (TAOK), total oksidatif durum (TOD) ve malondialdehit (MDA) gibi LPO ürünlerinin ölçülmesi ve oksidatif stres indeksinin (OSİ) hesaplanması gibi parametrelerden yararlanılmaktadır. OSİ, oksidan/antioksidan imbalansını daha net bir şekilde ortaya koymak amacı ile geliştirilmiştir ve bu indeksin oksidatif stresin saptanmasında uygun bir parametre olabileceği öne sürülmüştür (7).

Sigaranın yüksek oranda ROT içermesi antioksidan savunma mekanizmasını olumsuz yönde etkilemekte ve oksidatif strese artışa neden olabilmektedir (2, 8). Aynı zamanda, sigaranın nötrofillerden ROT üretimini stimule edebildiği de rapor edilmiştir (9, 10). Kotinin, vücut sıvılarındaki nikotinin majör metaboliti olup, mevcut sigara kullanımının veya sigara dumanına ekspozun kesin indikatörüdür (11). Sigara ile hastalıklar arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok sayıda çalışmada, kotinin nikotin ekspozunun kimyasal bir belirleyicisi olarak tanımlanmaktadır (12).

Periodontitisin patogeneğinde ROT, LPO ürünleri ve antioksidan sistemlerin önemli rol oynadığına dair bulgular mevcuttur (3, 5, 13, 14). Periodontal hastalığın, azalan antioksidan kapasite ve artan oksidatif hasarla ilişkili olduğu ve periodontitisli bireylerde lokal ve sistemik LPO düzeylerinde artış meydana geldiği rapor edilmiştir (13, 15, 16). Oksidatif stres parametrelerinin incelendiği güncel çalışmalarda, periodontitisli ve gingivitisli sigara kullanan bireylerin, sistemik ve lokal antioksidan seviyelerinin azaldığı veya arttığı ve sistemik ve lokal MDA seviyelerinin ise arttığı rapor edilmiştir. Günümüzde sigara ve periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmalarda, sigaranın periodontal dokulardaki olumsuz etkileri saptanmış olmakla birlikte, oksidatif stresin bu ilişkideki rolü hala tam olarak aydınlığa kavuşturulamamıştır.

Bu çalışmanın amacı; kronik periodontitisli bireylerde sigara kullanımının sistemik ve lokal TAOK, TOD, MDA düzeyleri ve OSİ üzerindeki etkisini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontitis

Periodontitis; periodontopatojenik mikroorganizmalar ile konak immün cevabı arasındaki kompleks etkileşimler sonucu meydana gelen, aynı zamanda etyopatogenezinde ve ilerlemesinde çevresel ve genetik faktörlerin de rol oynadığı, kronik inflamatuvar bir hastalıktır (17-20). Periodontal hastalıklara bağlı dişleri destekleyen kemik ve bağ dokusunda meydana gelen hasar sonucu, periodontal cep oluşumu, klinik ataçman kaybı ve gingival inflamasyon gibi klinik bulgular gözlenebilmektedir (21, 22).

Periodontal hastalıklar; klinik bulguları, etkilediği periodontal bölgeler, doku değişikliği veya kaybının derecesi, mikrobiyal flora, immünolojik özellikler, hastalığın seyri, hasta yaşı gibi kriterler göz önünde bulundurularak ve bilimsel tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmeler rehberliğinde çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır (23). 1999'da 'American Academy of Periodontology' tarafından önerilen en son sınıflandırma, günümüzde halen kabul görmektedir (24).

Bu sınıflandırmaya göre periodontal hastalıklar ve durumlar aşağıdaki şekildedir:

1) Gingival Hastalıklar

Plağa bağlı gingival hastalıklar

Plağa bağlı olmayan gingival lezyonlar

2) Kronik Periodontitis

Lokalize

Generalize

3) Agresif Periodontitis

Lokalize

Generalize

- 4) Sistemik Hastalıkların bir bulgusu olarak Periodontitisler
- 5) Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
 - Nekrotizan ülseratif gingivitis (NUG)
 - Nekrotizan ülseratif periodontitis (NUP)
- 6) Periodonsiyumun Apseleri
 - Gingival apseler
 - Periodontal apseler
 - Perikoronar apseler
- 7) Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitisler
 - Endodontik-periodontal lezyon
 - Periodontal-endodontik lezyon
 - Kombine lezyon
- 8) Gelişimsel veya Edinsel Deformiteler ve Durumlar
 - Plağa bağlı gingival hastalıkları veya periodontitisi predispoze eden, diş ile ilişkili lokalize faktörler
 - Dişler etrafındaki mukogingival deformiteler ve durumlar
 - Dişsiz kretlerdeki mukogingival deformiteler ve durumlar
 - Okluzal travma

2.1.1. Kronik Periodontitis

Daha önceleri ‘erişkin periodontitis’ veya ‘kronik erişkin periodontitis’ olarak tanımlanan kronik periodontitis, en sık rastlanan periodontitis tipidir. Genellikle erişkinlerde görülmekle birlikte, plak ve diştaşı birikimine bağlı olarak çocuklarda ve adölesanlarda da görülebilmektedir (17).

Kronik periodontitis genel olarak yavaş ilerleyen bir hastalık olarak kabul edilir. Bununla birlikte, konak-bakteri etkileşimi sonucu açığa çıkan iltihabi mediatörlerin lokal, sistemik ve çevresel faktörler varlığında artması sonucu, hızlı yıkım periyodları da gözlenebilmektedir (20, 25). Diabetes mellitus ve İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü (HIV) enfeksiyonu gibi sistemik hastalıkların, sigara ve stres gibi çevresel faktörlerin kronik periodontitisin prevalans ve şiddetini arttırdığı bilinmektedir (20, 26). Ancak doğuştan gelen (innate) ve sonradan

kazanılan (adaptif) immün yanıtlarında belirgin ve güçlü modifikasyonlar olan bireyler, kronik periodontitis hastası olarak kabul edilmemektedir (18).

Kronik periodontitisin etyolojisinde çok sayıda değişik periodontal patojen türleri rol oynamaktadır. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros*, *Treponema denticola* ve *Eikenella corrodens* önemli periodontal patojenlerdir (27-30). Bu mikroorganizmalar, sağlıklı bireylerdeki oral florada da yer almakla birlikte, periodonsiyuma invaze olabilmelerini, bu bölgelerde çoğalarak periodontal dokuları enfekte edebilme özelliklerini artıran çeşitli virülans özelliklere sahiptirler (31, 32).

Kronik periodontitiste, etkilenen dişlerin sayısı ve tipi ile ilgili tutarlı bir yıkım paterni yoktur. Hastalık birkaç dişte lokalize olabileceği gibi, bütün dentisyonu da etkileyebilir (18). Bununla birlikte; kronik periodontitis, hastalığın dağılımına veya şiddetine göre farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır.

Hastalığın dağılımına göre; lokalize veya generalize olarak tanımlanabilir (24):

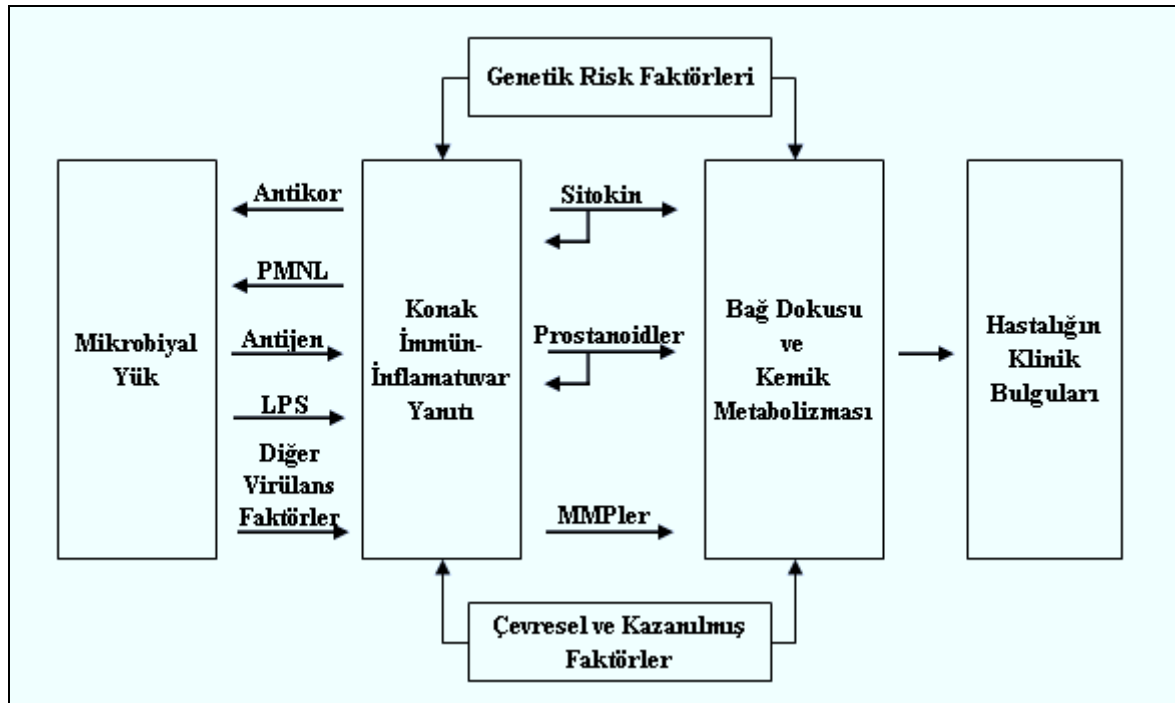
- Lokalize Kronik Periodontitis: Ağızdaki bölgelerin %30'undan azında ataçman ve kemik kaybı görülür.
- Generalize Kronik Periodontitis: Ağızdaki bölgelerin %30'undan fazlasında ataçman ve kemik kaybı görülür.

Hastalığın şiddetine göre; hafif, orta ve şiddetli olarak tanımlanabilir (17):

- Hafif düzeyde periodontitis: 1-2 mm veya daha az klinik ataçman kaybı olduğunda periodontal yıkım hafif olarak ifade edilir.
- Orta düzeyde periodontitis: 3-4 mm klinik ataçman kaybı olduğunda periodontal yıkım miktarı orta düzeyde olarak düşünülür.
- Şiddetli düzeyde periodontitis: 5mm veya daha fazla periodontal ataçman kaybı vardır.

2.2 Periodontal Hastalık Patogenezi

Periodontitisin başlangıcı ve ilerleyişi, periodontal patojenler ve konak immün sistemi arasındaki etkileşim sonucu açığa çıkan iltihabı arttıran ve azaltan mediatörlerin denge içinde olmaması ile ilişkilidir (22, 33). Konak-mikroorganizma etkileşimi sonucu iltihabı arttıran mediatörlerin daha fazla salgılandığı bireyler, konak duyarlılığı yüksek olan bireyler olarak kabul edilir (19, 34, 35). Konak duyarlılığı kısmen genetik olmakla birlikte, viral enfeksiyonlar, sigara kullanımı ve stres gibi çevresel ve davranışsal faktörlerden etkilenebilmektedir (34).



Şekil 2.1. Periodontal Hastalık Mekanizması(22)

Mikroorganizmalar patojenik etkilerini direkt doku yıkımına neden olarak veya indirekt olarak konak yanıtını stimüle ve modüle ederek gösterirler. Direkt doku yıkımında, mikroorganizmaların periodontal dokulara invazyonu ve hücre ölümü ile doku nekrozunu indükleyen zararlı maddelerin üretimi görülmektedir (19). Çok sayıda bakteri direkt doku yıkımına neden olabilmektedir ancak periodontal hastalıktaki bağ dokusu yıkımının esas sorumlusu mikroorganizmalar ve konak hücreleri arasındaki etkileşimdir (36). Konak yanıtı,

akut inflamatuvar hücrelerin (nötrofillerin) antimikrobiyal aktiviteleri ile kronik inflamatuvar hücrelerin (monositler, makrofajlar ve lenfositler) adaptif aktivitelerinden oluşur (37). Nötrofiller, inflamasyona karşı ilk koruyucu bariyeri oluştururlar ve periodontal yıkıma karşı konak direncinde kritik öneme sahiptirler (19, 38, 39). Bakteriye hücre komponentleri, konak hücrelerini Toll-like reseptörler (TLR) aracılığıyla stimule ederek pro-inflamatuvar mediyatörlerin salınımına yol açarlar (35). Lipopolisakarit (LPS), Gram (-) bakteri membranında yer alan virülans bir faktördür ve TLR4'ü stimule edebildiğinden, doğuştan gelen immün sistemin kuvvetli bir aktivatörüdür (19, 39, 40). Periodontitisli bireylerde, konak hücrelerin LPS'ye karşı yüksek duyarlı oluşu, hem periodontal doku yıkımına hem de sistemik hastalıklara yatkınlığı arttıran bir faktör olabilir (41).

TLR sistemi, enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattını yönetmekle birlikte adaptif immün cevaplara karşı ikincil uyarı sağlar (35). Monositlerin ve endotel hücrelerin aktivasyonu ile, interlökin 1 (IL-1), Tümör Nekrozis Faktör (TNF), prostaglandin E2 (PG-E2) ve interlökin-6 (IL-6) gibi proinflamatuvar mediyatörlerin sekresyonu gerçekleşir (19). Bu mediyatörler, platelet aktivasyon faktörü (PAF), biyoaktif aminler (bradikinin ve histamin) ve prostaglandinlerden oluşan sekonder inflamatuvar mediyatörlerin salınımına neden olur (19, 39, 40). İnflamatuvar sitokinler tarafından stimule edilen fibroblastlar ve makrofajlar, primer hedefi ekstraselüler matriksin yıkımı olan matriks metalloproteinazları (MMP) üretirler (34).

Kompleman sistemi, 30 kadar proteinden oluşan ve inflamatuvar süreçte yer alan diğer bir faktördür. Alternatif yolla (LPS ve diğer bakteriyel komponentler ile) veya klasik yolla (antijen-antikor kompleksleri ile) aktive olabilmektedir (19). Kompleman sisteminin aktivasyonu, antibakteriyel immünitede koruyucu bir mekanizma olarak kabul edilir, ancak bu yolda ortaya çıkan ürünler doku yıkımına neden olabilmektedir (19, 34, 42).

İmmün mediyatörlü mekanizmalarda T-lenfositler merkezi rol oynar ve T helper 1 (Th1) ve T helper 2 (Th2) hücreleri arasındaki denge kritiktir. Th1 hücreleri ağırlıklı olarak hücre mediyatörlü immün cevapları kontrol eder ve B hücreleri ile plazma hücrelerini baskılar. Th2 hücreleri ise, B hücresi humoral immün yanıtını indüklerken T hücre mediyatörlü immün yanıtları baskılar. Bir B hücresi lezyonu olan kronik periodontitis Th2 hücreleri tarafından

yönetilirken gingivitis ve stabil periodontal lezyonlar Th1 hücreleri tarafından yönetilmektedir (34).

B-lenfositler ve plazma hücreleri tarafından immünglobülinlerin sentezi, periodontal patojenlere karşı hümmoral immün yanıtı oluşturur. Özellikle IgG ve IgA antikorlarının üretiminin periodontal hastalık patogenezinde koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir (43). Antijenlere karşı antikor cevabı spesifik genlerle kontrol edilir ve baskın bakteriyel antijene karşı yüksek afiniteye sahip antikor üremeyen bireylerin, periodontal hastalığa daha yatkın oldukları kabul edilmektedir (44).

Sonuç olarak; konak hücreleri ve periodontopatojenlerin etkileşimine bağlı proinflatuar mediatörlerde meydana gelen artış, lokal doku yıkımıyla sonuçlanabilir ve periodontal hastalık bulguları ortaya çıkar (35, 45).

2.3 Periodontal Hastalık Aktivitesi

Periodontal hastalık, yıkımın belirgin olduğu şiddetli dönemler ve iltihabi cevabın azalıp yıkımın yavaşladığı veya durduğu sessiz dönemlerden oluşmaktadır. Bu dönemler aktif ve inaktif dönemler olarak da bilinir ve bu sürece *burst hipotezi* denir (46). Gram-negatif plak formasyonu ile periodontal hastalığın aktif dönemi başlar. Bu dönemde, ataçman ve kemik kaybı meydana gelir ve bunun sonucunda periodontal cep oluşur veya mevcut periodontal cep derinleşebilir. Aktif dönemde, spontan veya sondalamaya bağlı dişeti kanaması ve gingivada iltihabi sıvı artışı görülmektedir. Histolojik olarak, bu bölgelerde cep epitelinde incelmeye ve ülserasyon gözlenirken, aynı zamanda plazma hücreleri ve polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) infiltrasyonu da izlenmektedir. Günler, haftalar ve hatta aylar sürebilen bu dönemi gram-pozitif mikroorganizmaların hakim olduğu inaktif dönem takip eder (47).

Periodontal hastalığın teşhis edilmesinde klinik ve radyolojik tanı yöntemlerinden yararlanılmakla birlikte, periodontal hastalık aktivitesinin belirlenmesinde bu yöntemler yetersiz kalmaktadır (48). En önemli periodontal hastalık tanı kriteri olan klinik periodontal diagnostik parametreler, periodontal hastalığın varlığını ya da bireyin geçmiş periodontal hastalık hikayesini belirleyebilir, ancak standardize longitudinal ölçümler yapılmadıkça,

periodontal hastalığın o anda ilerleyip ilerlemediğinin ve bireyin hastalığa duyarlılığının tespit edilmesinde sınırlı imkan sağlarlar (49). Bu nedenle konvansiyonel tanı tekniklerine ek olarak uygun tanı kriterlerinin oluşturulabilmesi için, tükürük, serum, dişeti oluğu sıvısı (DOS), dişeti dokusu ve plak gibi örneklerde biyokimyasal, genetik, immünolojik ve mikrobiyolojik çalışmalar yapılmaktadır.

2.4. Tükürük

Sindirim fonksiyonunda rolü olan ve birçok fonksiyonel immün maddeyi içeren tükürük, oral kavite ve tüm organizma için önemli bir akışkandır. Tükürük; konak koruyucu özelliğinin yanı sıra, serbest radikal kaynaklı oksidatif strese karşı ilk savunma hattını da oluşturmaktadır (50-52).

Tükürük; majör tükürük bezleri (parotis, submandibular, sublingual) ve ağzın farklı yerlerine dağılmış (damak, yanak, dudak, dil) minör tükürük bezleri tarafından salgılanır ve makromoleküller ve su olmak üzere iki ana komponentten oluşur (51). Tükürüğün % 99'u sudan meydana gelirken, % 1'i inorganik iyonlar, salgısal glikoproteinler, serum elemanları ve enzimlerden oluşmaktadır. Normal tükürük renksiz, transparan, viskoz ve tatsızdır. Tükürüğün yoğunluğu 1003–1009 g/ml arasında değişir. Hipotoniktir ve viskozitesi 19-35 mPa.s (milipaskalsaniye) arasındadır (51, 53).

Tükürük kompleks bir sekresyon olup, sağlık ve hastalık durumlarında önemli rol oynayan çeşitli komponentler içerir (54, 55). Tükürükte, amilaz, muramidaz (lizozim), laktoferrin, maltaz, alkalin ve asit fosfataz, adenzin trifosfataz, laktoperoksidaz, kallikrein, laktik dehidrogenaz gibi enzimler (51, 54) ile ürik asit ve peroksidaz gibi suda çözünebilen çeşitli antioksidanlar yer alır (52, 56). Yağda çözünen antioksidanların tükürük konsantrasyonu oldukça düşüktür ve bunlar total tükürük antioksidan kapasitesinin %10'undan azını oluşturur (56). Değişen miktarlarda kan, serum, serum ürünleri, DOS, elektrolitler, epitelyal ve immün hücreler, mikroorganizmalar, bronşiyal ürünler ve diğer yabancı maddeler de tükürük içinde yer almaktadır (50).

Tükürük kolay elde edilebilmesi, elde edilme yönteminin ucuz olması, minimal infeksiyon riski taşıması gibi avantajları nedeniyle, çeşitli sistemik ve oral hastalıkların teşhisinde (50, 57) ve bazı hastalıkların şiddetinin ölçümünde ve tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılabilir (50, 58). Tükürük, aynı zamanda periodontal hastalıklarda tanıya ve uygulanan periodontal tedavilerin sonuçlarının değerlendirilmesine yönelik olarak kullanılmaktadır (49).

Tükürükten elde edilen örneklerde; konak kaynaklı enzim ve proteinler, fenotipik markırlar, konak immün sistem hücreleri, hormonlar, bakteri ve bakteri ürünleri, uçucu bileşikler ve çeşitli iyonlar incelenebilir (49, 59). Tükürükte tüm lökosit çeşitleri görülmektedir. Tükürükte yaşamını sürdüren PMNL'lere orogranülositler denir. Dişeti inflamasyonunda, gingival sulkustan oral kaviteye göç eden PMNL sayısında artış olur (60). PMNL'ler, reaktif oksijen türlerini (ROT) de içeren çeşitli antimikrobiyal faktörler üretirler ve mikrobiyal patojenlere karşı ilk savunma hattını oluştururlar (6). Periodontal hastalıkta PMNL'lerin fonksiyonel olarak aktif hale geldiği ve artmış ROT üretimi sergilediği gösterilmiştir. Bu nedenle tükürük oksidatif stres ile ilişkili markırların belirlenebileceği en ideal örneklerden biridir.

2.5. Serum

Kan damarlar içerisinde sürekli hareket halinde olan canlı bir sıvıdır. Normal bir insanda 5000-6000 mL kadar kan bulunmaktadır. Kan, plazma (%50-60) ve hücreler (%40-50) olmak üzere iki temel kısımdan oluşmaktadır. Kan hücreleri; eritrositler, lökositler ve trombositlerdir. Plazma, kanın sıvı kısmıdır, büyük oranda sudan meydana gelir ve içerisinde besin maddeleri, proteinler ve metabolitler gibi birçok katı maddeyi barındırır.

Pıhtılaşmış kanın santrifüj edilmesiyle elde edilen sıvıya serum denir. Serumun plazmadan farkı fibrinojen ve diğer bazı pıhtılaşma faktörlerini içermemesidir. Serum, % 91 su, % 8 organik maddeler ve % 1 inorganik maddelerden oluşur. Organik bileşenlerin tamamına yakını proteindir.

Serum çok sayıda patolojinin tespitinde kullanılan en önemli tanısal sıvılardan biridir. Periodontal hastalıkta, bakteri ve bakteri ürünlerinin ülsere sulküler epitelden sistemik kan sirkülasyonuna geçişi söz konusu olduğundan, periodontitis yalnızca lokalize bir enfeksiyon

olmayıp sistemik etkilere de yol açabilen kompleks bir hastalıktır. Periodontitiste, antioksidan kapasitedeki değişimler ve oksidatif stres ile ilişkili belirteçler serumda incelenebilmektedir (3, 5, 16, 61-65).

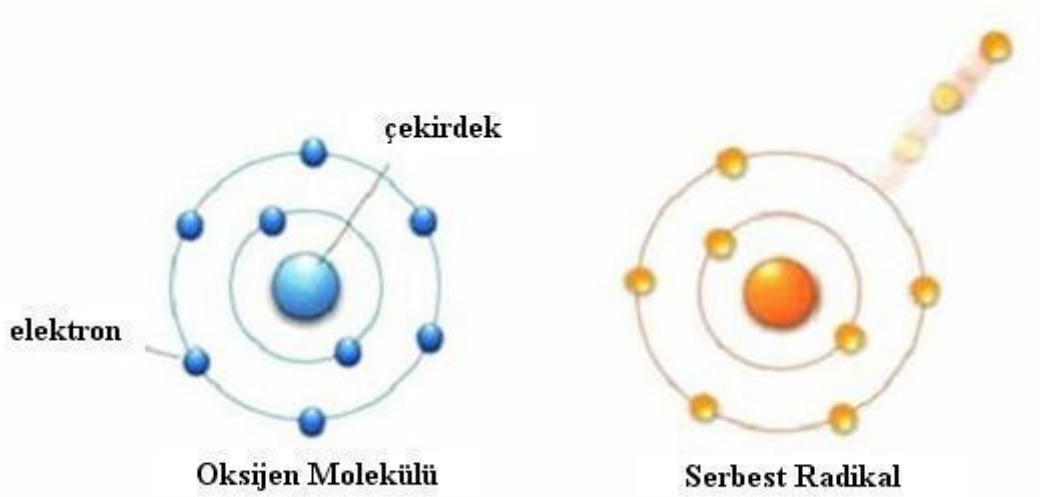
2.6. Oksijen ve Serbest Radikaller

Oksijen bütün canlılar için vazgeçilmez bir element olup; hidrojen, karbon, nitrojen ve kükürt ile birlikte organik moleküllerin temel yapısal atomlarını oluşturur. Aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle oksijen hayati bir öneme sahiptir (66, 67).

Aerobik canlılar yaşamları için mutlaka moleküler oksijene gereksinim duyarken, anaerobik canlıların büyüme ve çoğalmaları oksijene bağımlı değildir. Oksijen, anaerobik türler için toksik etkiye sahip olmakla birlikte, yaşamları için mutlaka moleküler oksijene bağımlı olan aerobik canlılarda da toksik etkili olabilmektedir (68).

Aerobik canlılarda gözlenen oksijen toksisitesinin ilk açıklaması, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir (69). Ancak oksijenin enzim inhibisyonu etkisi sınırlı ve çok zayıftır. İlk kez 1954 yılında, oksijenin biyolojik sistemlerde görülen toksik etkilerinin, oksijenin bazı reaktif türlerinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (70). Günümüzde, oksijenin canlılardaki toksik etkisinin “serbest oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı bilinmektedir (67).

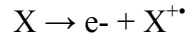
Serbest radikaller, bağımsız olarak var olabilen ve dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektrona sahip moleküllerdir (71, 72). Paylaşılmamış elektronlar son derece reaktif olduğundan, serbest radikaller hızla kimyasal reaksiyonlara girebilme eğilimindedirler (73). Serbest radikaller aynı zamanda, hücre ve doku fonksiyonlarında hayati öneme sahip çok sayıda biyomolekülü oksidize edebilmektedir (74).



Şekil 2.2. Serbest Oksijen Radikali

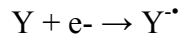
2.6.1. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları (75)

1. Radikal olmayan atom veya molekülden bir elektron kaybı;



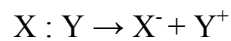
Normal bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa radikal formu oluşur.

2. Radikal olmayan atom veya molekülün bir elektron kazanması;



Normal bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir.

3. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı;



Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık, kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri farklı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir. Bölünme sonrası her iki atom üzerinde de paylaşılmamış elektron kalır (68).

Canlılardaki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşur. Hücrelerde adenzin trifosfat (ATP) üretiminin asıl kaynağı mitokondrial elektron transport sistemidir (ETS). ETS’de, elektronların nikotinamid adenin dinükleotidden (NADH) ve flavin adenin dinükleotidden (FADH₂) moleküler oksijene aktarılması sırasında elde edilen enerji ATP sentezinde kullanılmaktadır. Ancak, bu süreçte tüm elektronların %1-3’ü oksijenin suya indirgenmesine katılmaz ve serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur (76).

Serbest radikaller, temel olarak, ROT ve Reaktif Nitrojen Türleri (RNT) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (73).

2.7. Reaktif Oksijen Türleri ve Etki Mekanizmaları

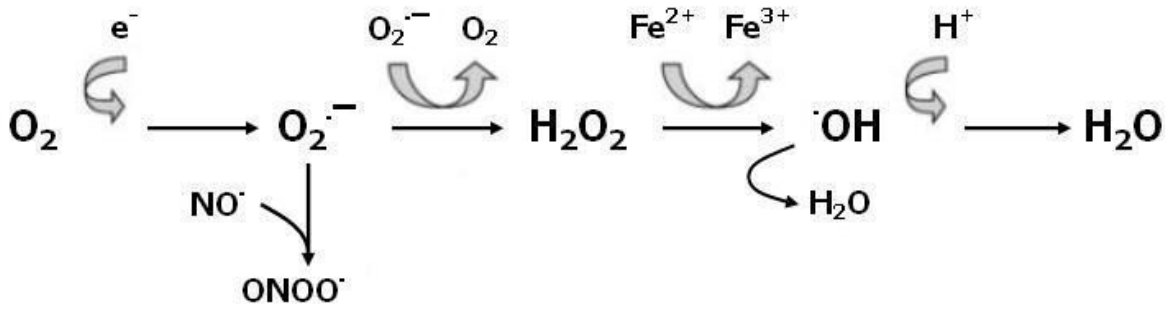
Reaktif oksijen türleri (ROT), serbest oksijen radikallerini ve aynı zamanda radikal olmadığı halde intra ve ekstraselüler ortamlarda radikal oluşturma özelliğine sahip diğer reaktif türlerini içeren genel bir terimdir (72, 75).

Canlılarda ROT oluşumundan sorumlu en önemli hücreler, konak savunma hücreleri (fagositler) ve bağ dokusu hücreleridir (osteoklastlar ve fibroblastlar) (72).

ROT; normal metabolik reaksiyonlarda önemli fonksiyonlara sahip olmakla birlikte, romatoid artrit, AIDS, kanser, ateroskleroz ve yaşlanma süreci gibi çeşitli tıbbi durumların ve periodontitisi de içeren kronik inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (66, 75, 77-80).

Zararlı maddelere karşı hücresel cevabın gelişmesi, mitojenik cevap, hücresel haberleşme ve çeşitli reseptör aracılı sinyal yollarını aktive edebilme yeteneği ROT’un faydalı etkilerindedir (73). Normal fizyolojik olaylarda, serbest radikaller mikroorganizmalara karşı

savunmada önemli rol oynarlar. PMNL'ler tarafından ROT üretimi primer olarak bakteri öldürülmesine yöneliktir ancak ROT'un ekstraselüler yayılımı çevre dokuların yıkımıyla sonuçlanır (81).

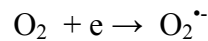


Şekil 2.3. Normal oksijen metabolizması sırasında ROT oluşumu

Başlıca ROT türleri; Süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet -}$), Hidrojen peroksit (H_2O_2), Hidroksil (OH^\bullet), Hipoklorik asit (HOCl), Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) ve Peroksil (ROO^\bullet) radikalleridir.

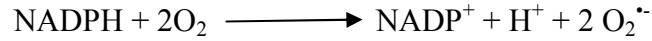
2.7.1. Süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet -}$)

Süperoksit; moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur (82). Canlılarda, aktive olmuş fagositler (nötrofiller, monositler, eozinofiller, makrofajlar) tarafından üretildiği gösterilen ilk radikaldir (83).

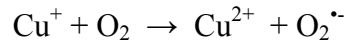
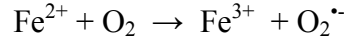


Süperoksidin oluşumu ile ilgili çok sayıda mekanizma vardır. Bu mekanizmalardan önemli olanları şu şekilde özetlenebilir:

- Fagozomun plazma membranındaki enzim sisteminin aktivasyonu, NADPH'ın NADP^+ 'ya oksidasyonuna neden olurken bu süreçte serbest kalan iki elektron moleküler oksijeni süperoksite indirger (83, 84).



- Hidrokinonlar, flavinler, tiyoller, katekolaminler, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotidler gibi çok sayıda biyomolekül aerobik ortamda oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken süperoksit yapımına neden olurlar (67, 85).

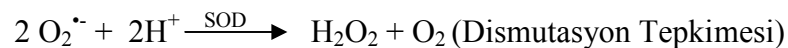


- Dehidrogenazlar ve oksidazlar başta olmak üzere, çok sayıda enzimin katalitik etkisi sırasında da süperoksit bir ürün olarak oluşabilir (67).
- Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında, NADH-dehidrogenaz ve koenzim-Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçığının olması sonucu da süperoksit oluşur (67).

Diğer radikallere oranla reaktivitesi çok az olan süperoksit, daha reaktif türlerin oluşum mekanizmalarına katılarak çok sayıda hastalığın patofizyolojisinde yer alır. Süperoksit, mitokondriyal süperoksit dismutaz (SOD) tarafından parçalanır ve hidrojen peroksit üretilir (73).

2.7.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, oksijen molekülüne iki elektron eklenmesi ile meydana gelmektedir ve doku hasarına yol açma potansiyeli sınırlıdır. Bu nedenle toksisitesi düşüktür. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin dismutasyonu ile olur (86).



İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim SOD

tarafından katalizlenen bu tepkimeye “dismutasyon tepkimesi” denir. Süperoksit, hafif asidik koşullarda (pH:4.8) SOD olmadan kendiliğinden dismutasyonla hidrojen peroksit dönüşebilmektedir (66-68).

Hidrojen peroksitin pK'sı 10.6 olduğundan, nötral ve asidik koşullarda net yük taşımaz ve biyolojik zarları kolayca geçebilir (67). Konsantrasyonu 50 μM 'yi aşmadığı sürece sitotoksitesi düşüktür (72, 86) ve daha çok hücre sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır (72, 87). Ancak hidrojen peroksit, Fenton reaksiyonları veya ultraviyole ışınlar nedeniyle metal iyonlarıyla reaksiyona girerek son derece toksik olan hidroksil radikalini oluşturabilir (72). Hidrojen peroksit, özellikle proteinlerdeki prostetik grup olan hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki ferril demir (Fe^{IV}) ve perferril demir (Fe^{V}) oluşumuna neden olur. Bu formdaki reaktif demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahiptir ve hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir. Hidrojen peroksit, bu özellikleri nedeniyle, biyolojik sistemlerde daha toksik olabilmektedir (67).

Bazı hücrelerde hidrojen peroksit nükleer faktör- κB 'nın (nükleer transkripsiyon faktörü) aktivasyonunda ikincil mesajcı olarak rol oynamaktadır (88, 89).

Hidrojen peroksit inflamasyon olan bölgelerde;

- Adezyon molekülü ekspresyonunu artırabilir (90)
- Hücresel proliferasyona neden olabilir (72)
- Apoptozisi indükleyebilir (91, 92)
- Trombosit agregasyonunu modüle edebilir (93)

Hidrojen peroksitin uzaklaştırılmasından sorumlu başlıca enzimler katalaz, glutatyon peroksidaz ve tiyoredoksin bağlı peroksidazlardır (72, 86).

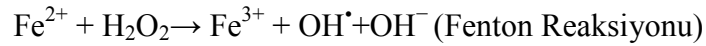
Hidrojen peroksit, çay ve kahvede yüksek miktarda bulunur ve oral mukozal hücrelere diffüze olduğu düşünülmektedir (72). Aynı zamanda, oral bakteriler tarafından da üretilir ve tükürükteki hidrojen peroksit, tükürük peroksidaz sistem tarafından tiyosiyanatın antimikrobiyal ürünlere oksidasyonunda kullanılmaktadır (94).

2.7.3. Hidroksil Radikali (OH[•])

Hidroksil radikali, oksijen molekülüne üç elektron eklenmesi ile oluşur, hidroksit iyonunun nötr formudur ve bilinen en reaktif ve toksik radikaldir (76). İn-vivo yarılanma ömrünün 37 derecede yaklaşık 10⁻⁹ saniye olması nedeniyle, yalnızca oluştuğu bölgede ve çevresinde zararlı etki göstermektedir (76, 95).

Hidroksil radikali'nin oluşum mekanizmaları aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

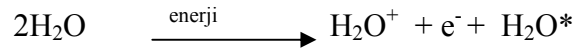
Demir ve bakır iyonlarının varlığında hidrojen peroksit, Fenton Reaksiyonuna katılarak hidroksil radikali üretimine neden olmaktadır (72, 96, 97).



Süperoksit radikalinin varlığında, Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidroksil radikali üretimi meydana gelmektedir (97, 98).



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda hidroksil radikali oluşabilmektedir. Öncelikle sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması gerçekleşir.

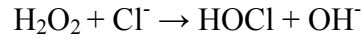


Uyarılmış su molekülü (H₂O^{*}) homolitik yıkım ile; H₂O⁺ ise bir su molekülü ile tepkimeye girerek hidroksil radikalini oluştururlar.

Hidroksil radikalinin, DNA ile membran lipitleri ve karbonhidratları gibi, hücrenin makro molekülleri üzerinde yıkıcı etkisi olmadığı bildirilmiştir (99, 100).

2.7.4. Hipoklorik Asit (HOCl)

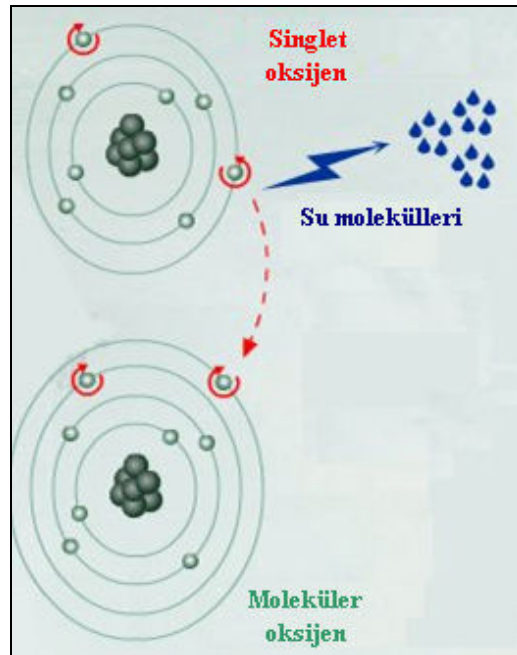
Fagositik degranülasyon sırasında nötrofiller, içerdikleri azurofilik myeloperoksidaz (MPO) enzimi aracılığıyla, süperoksidin dismutasyonu ile oluşan hidrojenperoksidi, klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan hipoklorik asite dönüştürürler (66, 77, 101).



Bu mekanizma fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynamaktadır.

2.7.5. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Moleküler oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle singlet oksijen oluşur. Singlet oksijen, yapısında eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan bir reaktif oksijen molekülüdür. Son derece toksik olduğu bilinmektedir (72, 102).



Şekil 2.4. Singlet oksijen oluşumu

Singlet oksijen, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması nedeniyle önem taşımaktadır. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve ayrıca hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Tüm bu özelliklerinin yanı sıra, biyolojik olarak önemli proteinlerin yıkım ürünleri ile reaksiyon vererek önemli hasarlar oluşturabilmektedir (103). Deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde yoğun olarak tespit edilmiştir (71).

2.7.6. Peroksil Radikalleri (ROO•)

Peroksil radikalleri genellikle karbon merkezli bir radikalın oksijen ile reaksiyonu sonucunda oluşmaktadır (104). En basit peroksil radikali $O_2^{\bullet-}$ 'in protonlanmış hali olan HOO^{\bullet} 'dir ve genellikle hidroperoksil radikali veya perhidroksil radikali olarak adlandırılır (76). Yağ asidi peroksidasyonu, yağların bileşimindeki doymamış moleküllerin oksijenle yükseltgenmesi sonucu meydana gelir. Hidroperoksil radikali, yağ asidi peroksidasyonunu, yağ asidi hidroperoksidinden bağımsız ve bağımlı iki paralel yolla başlatır (105). Lipid hidroperoksid (LOOH) bağımlı yağ asidi peroksidasyonu, in vivo LPO mekanizmasının başlangıcı olabilir (76).

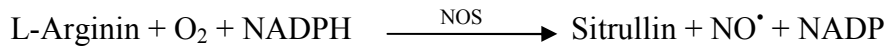
2.7.7. Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)

Reaktif Nitrojen Türleri, nitrik oksiti (NO), nitrojen dioksiti (NO_2) ve peroksinitriti ($ONOO^{\bullet}$) içeren nitrojenöz ürünlerdir. RNT, ROT'tan farklı kimyasal ve biyolojik özellikler sergiler ve hedef moleküllerin nitrozilasyonu ve nitrasyonu yoluyla nitrosatif stres meydana getirebilir (73).

Nitrik oksit, yörüngesinde paylaşılmamış bir elektron içeren küçük bir moleküldür. Paylaşılmamış elektron aslında nitrojen atomuna ait ise de, bu elektronun hem nitrojen hem de oksijen atomu üzerinde lokalize olması nedeniyle tam radikal özelliği taşımamaktadır (76).

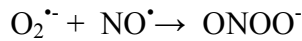
Nitrik oksit, dokularda L-arjininden spesifik nitrik oksit sentazlar(NOSs) tarafından üretilir (73, 106). Bu enzimin nöronal (nNOS), endotelial (eNOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak

üzere üç formu vardır (67). eNOS ve nNOS enzimleri tarafından üretilen çok düşük derişimdeki nitrik oksit, nörotransmisyon, kan basıncının düzenlenmesi, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi ve immün regülasyon gibi çok çeşitli fizyolojik mekanizmalarda önemli oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak görev almaktadır (76, 107). Nitrik oksit sentazların indüklenbilir (iNOS) formu ise başta fagositik lökositler olmak üzere çeşitli hücrelerde bulunur ve sentezi sitokinler ile bakteriyel toksinler tarafından indüklenir. iNOS enziminin aktivitesi kalsiyumdan bağımsızdır ve kontrol edilemediğinden dolayı ortamda arjinin bulunduğu sürece aktif hale geçerek, uzun süreli ve yüksek derişimde nitrik oksit sentezini katalizler (67). iNOS tarafından üretilen nitrik oksitin periodontal hastalıktaki kemik yıkımıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (108).



Hücre içinde nitrik oksit konsantrasyonunun artışı nöronal yıkımla sonuçlanan toksik olayları başlatır (109).

Nitrik oksit, yüksek derecede reaktif bir radikal olan ve şiddetli doku hasarına neden olabilen peroksinitriti (ONOO⁻) üretmek üzere süperoksit radikaliyle reaksiyona girer (76, 97). ONOO⁻ anyonu çok potent bir okside edici ajandır ve DNA parçalanmasına, lipid oksidasyonuna ve protein hasarına neden olmaktadır (73, 76, 97, 110).



Fizyolojik derişimde üretilen nitrik oksit esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO₃⁻) oksitlenir ve aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksiti ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. Konsantrasyonunun artmasıyla oksidasyonu hızlandığından kendi ömrü ile ortamdaki konsantrasyonu arasında ters bir orantı vardır (73).

Nitrik oksitin sıvı ortamlardaki yarı ömrü yalnızca birkaç saniyedir ancak düşük oksijen konsantrasyonlarında bu süre artmaktadır (76).

Tablo 2.1. ROT üretim mekanizmaları (77)

ROT	Kaynak
Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	NADPH oksidaz
	$NADPH + 2O_2 \rightarrow NADP^+ + H^+ + 2 O_2^{\cdot-}$
Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Dismutasyon reaksiyonu (spontan veya SOD enzimi aracılı)
	$2 O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Hidroksil radikali (OH^{\cdot})	Haber-Weiss reaksiyonu
	$O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow OH + OH^{\cdot} + O_2$
	Fenton reaksiyonu
	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow OH + OH^{\cdot} + Fe^{3+}$
Hipoklorik asit (HOCl)	Miyeloperoksidaz
	$2Cl^- + H_2O_2 \rightarrow 2HOCl$
Nitrik oksit (NO) ve Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)	Nitrik oksit sentaz
	$L\text{-arginin} + NADPH + O_2 \rightarrow N\text{-hidroksi-L-arginin} + H_2O + NADP^+ + H^+$
	$N\text{-hidroksi-L-arginin} + \frac{1}{2} NADPH + O_2 \rightarrow L\text{-sitrulin} + NO^{\cdot} + H_2O$ $NO^{\cdot} + O_2^{\cdot-} \rightarrow ONOO^{\cdot} + H^+ \rightarrow OH + NO_2$

2.8. Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları

- 1) Elektron Transport Sistemi (ETS): Mitokondri, hücreye giren oksijenin yaklaşık %90'ından fazlasının tüketildiği önemli bir hücresel organeldir. Mitokondri iç zarında gerçekleşen solunum zinciri reaksiyonu, ROT oluşumu için önemli bir kaynaktır. Kullanılan oksijenin yaklaşık % 1-3'ü serbest radikale dönüştürülür (76). Moleküler oksijen, solunum zincirinde bir elektronunu kaybederek süperoksite dönüşür (111). ETS'de süperoksit üretiminden sorumlu iki temel bölge kompleks I (NADH dehidrogenaz) ve kompleks III (koenzim Q- sitokrom b)'tür (112).
- 2) Fagositik hücreler: Aktive olmuş fagositler tarafından membranda yerleşik bulunan nikotinamid adenin dinükleotid fosfataz (NADPH) enzimi yoluyla ROT üretimi

gerçekleşir. Fagositik hücrelerin uyarılmasıyla meydana gelen seri reaksiyonlara *solumum patlaması* adı verilir (76, 113).

- 3) Kimyasal maddeler: Kimyasal ajanlardan serbest radikal oluşmasındaki en önemli mekanizma, ksenobiyotiklerin mikrozomal sitokrom P-450 sistemi ile aktivasyonudur. Bir diğer mekanizma ise redoks döngüsüdür. Menadion, paraquat, diquat, nitrofurantoin, adriamisin, bleomisin ve furosemid gibi kimyasal bileşikler alternatif bir redoks siklusuna girerek ROT oluştururlar (114).
- 4) İyonize radyasyon: Atomdan elektron koparmak için yeterli enerjiye sahip olan radyasyona iyonize radyasyon denir. 1895 yılında, X-ışınlarının keşfedilmesinden kısa bir süre sonra iyonize radyasyonun insan dokusu üzerine zararlı etkilerinin olabileceğine işaret eden klinik etkiler görülmeye başlamıştır. Radyasyon etkisiyle biyolojik etkinin başlangıcındaki ilk olay su molekülünün parçalanmasıdır. Hücreler %70-90 oranında su içerdiğinden dolayı radyasyona maruz kaldığında radyasyon enerjisi su molekülleri ile etkileşir ve serbest radikaller meydana gelir (115).
- 5) Araşidonik asit metabolizması: Araşidonik asitin enzimatik oksidasyonuyla çeşitli reaktif ara ürünler meydana gelebilmektedir. Araşidonik asit oksidasyonunun, *solumum patlaması*'nın başlamasında da rolü olabileceği düşünülmektedir (116).
- 6) Oksidatif enzimler: Ksantin oksidaz, nikotinamid adenin dinükleotit oksidaz (NADPH), amino oksidaz, dihidroorotat dehidrogenaz gibi enzimler ROT üretilen metabolik reaksiyonlarda görev alırlar (116, 117).
- 7) Stres: Stres durumunda katekolamin düzeyi artar, katekolaminlerin oksidasyonu da serbest radikaller oluşur (118).
- 8) Reperfüzyon hasarı: Moleküler oksijenin arteriyel veya venöz kan akımının azalmasına bağlı olarak oksijensiz kalan dokulara yeniden girişi sonucunda, hızla serbest oksijen radikalleri oluşur ve hücrel hasar meydana gelir. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücrel yapılar, membran lipidleri, proteinler, nükleik

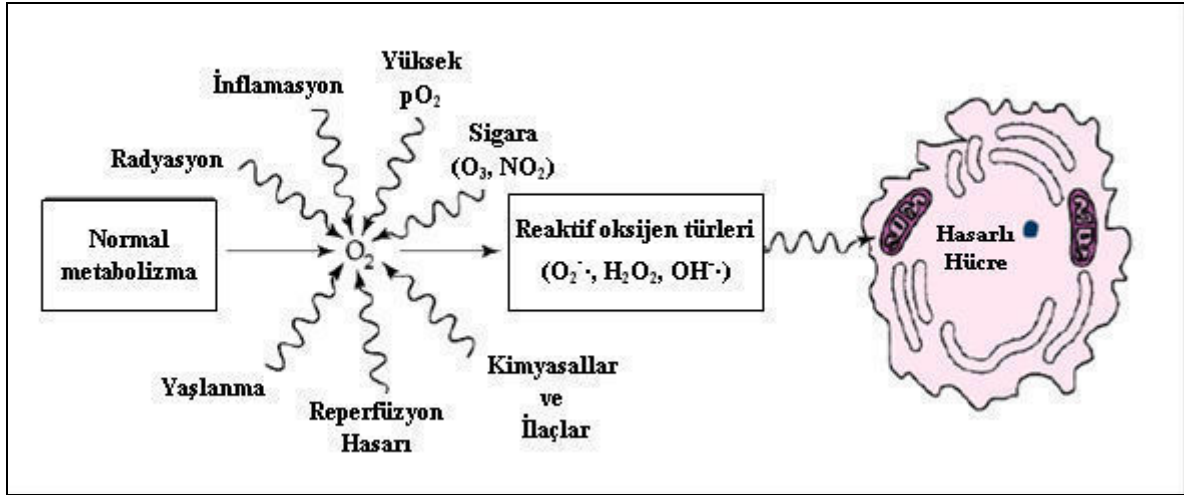
asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (119, 120).

- 9) Hava kirliliği: Atmosferde birikerek hava kirliliğine neden olan bazı bileşikler, nitrik oksit, süperoksit ve hidroksil radikali gibi serbest radikallerin oluşum reaksiyonlarında rol oynarlar (121).
- 10) Geçiş Metal İyonları: Hidrojen peroksit ve lipid peroksitler gibi düşük reaktif türlerin, hidroksil radikali veya peroksil/alkoksil radikalleri gibi yüksek reaktif türlere dönüşümünü katalizleyen metal iyonları aynı zamanda biyomoleküler oksidasyonların kuvvetli katalizörleridir. Hasarlı hücrelerden metal iyonlarının salınımı ekstraselüler çevrede de benzer prooksidan etkilerin görülmesine neden olur (78).
- 11) Akut Egzersiz: Egzersiz sırasında vücuda giren O₂ hacmindeki artış, mitokondriyal elektron transportunda, katekolaminlerde ve prostanooidlerde artışa neden olarak ROT oluşumunu indükleyebilmektedir (122).
- 12) Sigara: Bir nefes kadar sigara dumanı 1014 serbest radikal içermektedir (7).

2.9. Serbest Radikaller ve Hücresel Hasar

Serbest radikallerin biyolojik hasar oluşturabilecek zararlı etkilerine oksidatif ve nitrozatif stres denilir (74).

Serbest radikaller; uygun şartlarda vücut savunma sisteminin bir parçası olarak işlev görebilmekte, uygun olmayan şartlarda üretildiklerinde ise doku hasarına neden olabilmektedirler (123). Tüm canlı organizmalarda, ROT'un zararlı etkilerine karşı koruyucu antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir (3, 124). Normal fizyolojide, ROT aktivitesi ile antioksidan savunma kapasitesi arasında dinamik bir denge vardır. Antioksidan savunmadaki azalma ve/veya ROT üretim veya aktivitesindeki değişimlere bağlı olarak bir dengesizlik olduğunda oksidatif stres meydana gelmekte ve bunun sonucunda ROT hücrelerin önemli bileşenlerine hasar meydana getirebilmektedir (5, 123, 125, 126).



Şekil 2.5. ROT oluşumu ve hücresel hasar (72)

Oksidatif stresin temel hücresel hedefi; hücre tipine, oksidan üretim seviyesine, üretiminin yerine (intra veya ekstraselüler) ve oksidanın spesifik bir hücresel substrata yakınlığına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (127).

Oksidatif stresin, inflamasyona katkısı ve apoptotik hücre ölümündeki rolü nedeniyle ve immün sistem fonksiyonlarında azalmaya neden olmasından dolayı, otoimmün hastalıkların patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (123). Hasarlı antioksidan sistemlerin ve/veya artan oksidatif stresin, hemolitik anemi, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, multiple skleroz, diabetes mellitus, Behçet hastalığı ve Guillain-Barre sendromu gibi otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceği çok sayıda çalışmada gösterilmiştir (123, 128).

DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, protein hasarı, önemli enzimlerin oksidasyonu ve proinflamatuvar sitokin salınımının stimülasyonu gibi çeşitli mekanizmalar ROT'a bağlı doku hasarında önemli rol oynarlar (3, 13, 14, 125).

2.9.1. Total Oksidatif Durum

Oksidatif hasar sonuç ürünlerinin ölçümü, oksidatif stresin daha net belirlenebilmesine yardımcı olmaktadır (129, 130). Aynı zamanda, farklı oksidan moleküllerin tek tek

ölçümünün pratik olmaması ve oksidan moleküllerin birbirleriyle etkileşimini tam olarak yansıtamaması nedeniyle, Total Oksidatif Durumun (TOD) ölçülmesinin diğer yöntemlere göre daha üstün bir yöntem olduğu düşünülmektedir (131, 132). TOD ölçümü, lipid peroksidasyonunun ve oksidatif stresin tespit edilmesinde kullanılan güncel bir yöntemdir (3, 61, 132).

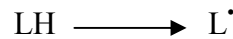
2.9.2. Lipid Peroksidasyonu

Çoklu doymamış yağ asitleri ROT ataklarına karşı yüksek duyarlılığa sahip hedeflerdir. Lipid peroksidasyonu (LPO), membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna bağlı olarak membran lipid yapısının değişmesi sonucu meydana gelen ve hücre yapı ve fonksiyonlarını bozulmasına neden olan kimyasal bir olaydır (16, 133).

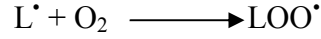
Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve dokularda hasar meydana getirir. Lipid peroksidasyonu sonucu meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri (L[•]) ve lipid peroksit radikallerinin (LOO[•]) oluşması, ROT'un neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliğidir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "nonenzimatik lipid peroksidasyonu" denir. Siklooksijenaz, lipooksijenaz, ksantin-ksantin oksidaz gibi enzimlerin başlattığı lipid peroksidasyonuna "enzimatik lipid peroksidasyonu" denir (134).

Lipid peroksidasyonuna neden olan en önemli radikaller, singlet oksijen ve hidroksil radikalleridir (135). Hiperoksidasyon, hipoksi ve metal intoksikasyonu gibi çok sayıda faktör veya yetersiz antioksidan savunma lipid peroksidasyonunu stimule edebilir (123).

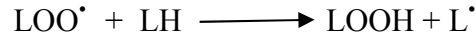
LPO genellikle, hidroksil veya peroksil radikalinin, lipid membrandaki çoklu doymamış yağ asitlerine atağı ile başlar. Bu atak, yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılmasına ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipid radikali niteliği kazanmasına neden olur (72, 134).



Lipid radikallerinin moleküler oksijenle (O_2) etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikalleri oluşur (72).

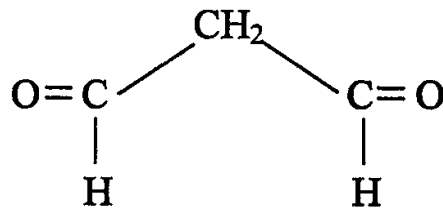


Lipid peroksit radikalleri, membrandaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomlarını alır ve lipidhidroperoksit oluşur. Zincir reaksiyonlarının devamı yüzlerce lipidhidroperoksit oluşumuna neden olur (72, 134).



Lipidhidroperoksitler yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Aldehitlerin uzun ömürlü olması, hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedir. Aldehitler, hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar (72).

Malondialdehit (MDA), LPO'nun düşük molekül ağırlıklı sonuç ürünlerinden biri olup üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelir (50, 136). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir ancak lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi ilişki göstermektedir (61).



Şekil 2.6. Malondialdehit

MDA, membran komponentlerinde çapraz bağlanmaya ve polimerizasyona sebep olmaktadır. Bunun sonucunda ise deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özellikleri değişmektedir (80).

4-hidroksialkenal (4-HDA), bir diğler LPO sonuç ürünüdür (76). 4-HDA, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, glutatyon S-transferaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimleri inaktive edebilir, proteinleri parçalayabilir, protein sentezini inhibe edebilir, DNA'ya hasar verebilir ve apoptozise ve hücre replikasyonunun kaybına neden olabilir (13, 137).

MDA'nın bakteriyel hücrelerde ve memeli hücrelerinde mutajenik, farelerde ise karsinojenik olduğu gösterilmiştir. 4-HDA ise daha az mutajeniktir ancak LPO'nun majör toksik sonuç ürünüdür (76).

8-epi-PGF2 α , prostaglandin benzeri bir bileşik olup ROT'un araşidonik asite etkisi sonucu meydana gelmektedir. Biyolojik sıvılarda tespitini *invivo* LPO'nun saptanması ve ölçümünde oldukça önemlidir (54).

Sağlıklı dokularda çok düşük düzeyde olan LPO'nun hastalıklı durumlardaki artışı, serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu doku hasarının göstergesi olarak kullanılabilir (50). Lipid peroksidasyon ürünleri, iltihabi dişeti dokularından difüze olduğundan dolayı, tükürükte ve serumda ölçülebilmektedir (16).

2.9.3. DNA Hasarı

Oksidatif stres, nükleotidlerin oksidasyonuna neden olarak, DNA hasarı meydana getirebilmektedir. İnsan vücudundaki her hücrede, DNA'nın günde 10³ kez oksidatif hasara maruz kaldığı açıklanmıştır (138, 139).

Oksidatif hasarın sonucu olarak, DNA'da tek ve çift dal kırıkları, kontrolsüz baz dizilimi, baz modifikasyonları ve DNA-protein arasında çapraz bağlanma olabilmektedir (138, 139).

DNA'da oksidatif hasar oluşturan başlıca radikaller; hidroksil radikali ve süperoksit radikalleridir. Hidroksil radikali, DNA molekülünün tüm komponentleriyle reaksiyona girerek pürin ve pirimidin bazlarına ve deoksiriboza zarar verirken (140), süperoksit, guanine spesifik bağlanarak oksidatif hasar oluşturmaktadır (141).

DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içeren ve çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. Metal iyonlarının bağlanmaları DNA molekülünü hidrojen peroksitin hedefi haline getirmektedir. Hidrojen peroksit, doğrudan DNA'da hasar yapamaz, ancak membranı kolayca geçerek, nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girer ve hidroksil radikali oluşturarak, dolaylı yollardan DNA hasarına neden olur (142).

Oksidatif stres aynı zamanda; hücrede sitozolik Ca^{+2} iyon konsantrasyonunda büyük artışa neden olmakta ve bunun sonucunda nükleustaki Ca bağımlı endonükleazları aktive ederek, DNA'nın fragmentasyonunun meydana gelmesine yol açmaktadır (71).

Nükleer DNA, oksidatif hasara karşı mitokondriyal DNA'dan (mtDNA) daha dayanıklıdır. Mitokondriyal DNA'nın, elektron transportunda ve ATP üretiminde yer alan polipeptidleri kodlaması nedeniyle, mtDNA'daki hasar mitokondriyal mRNA'da ve mitokondriyal protein sentezinde azalmaya neden olabilmektedir. Bunun yanı sıra; mtDNA delesyonunun doku yaşlanmasına ve artan kanser riskine neden olması da mümkündür (143, 144).

Oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz guanin'dir. 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), DNA hasarıyla vücut sıvılarına salınan okside bir nükleotiddir ve oksidatif stresin biyobelirteçlerinden biri olarak kabul edilmektedir (144-146).

Normal şartlarda organizmada oluşan düşük düzeylerdeki oksidatif DNA hasarı, DNA onarım enzimleri sayesinde minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilmektedir. Ancak DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazın oksidatif stres altında hasar görmesi, doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Genellikle onarım tamamlanıncaya kadar hücreler bölünmelerini durdurarak kendilerini korumaktadırlar (71).

Oksidatif DNA hasarı, nörodejeneratif hastalıklar (147), diyabet (148), kanser (149, 150) ve kronik inflamatuvar hastalıklar (151) gibi çok sayıda kronik durumun patogeneğinde yer almaktadır (144).

2.9.4. Protein Hasarı

Protein oksidasyonu, proteinlerin ROT ile doğrudan ya da oksidatif stresin sekonder yan ürünleri ile dolaylı reaksiyonu sonucu meydana gelen proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır (152). ROT, proteinlerle doğrudan tepkimeye girebilir veya şekerler ve lipidler gibi sonradan proteinlerle tepkimeye giren ürünleri (ör. reaktif karbonil türleri: RKT) üreten moleküllerle etkileşebilirler. ROT'un başlattığı protein modifikasyonları, protein yapısını değiştirir ve zararlı hücresel etkilere yol açar (153, 154). Protein oksidasyonunun en yaygın kullanılan belirteçlerinden biri protein karbonil gruplarıdır (127, 152-155).

2.10. Antioksidanlar

Antioksidanlar; serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelerdir. Aynı zamanda, ROT ve RNT'nin neden olduğu oksidatif hasarı engelleme, azaltma, erteleme veya ortadan kaldırmada önemli işlev görürler (61, 156). Tüm canlı organizmalar, ROT ve RNT'nin artan değerlerine karşı oksidasyon redüksiyonunu sağlamak ve muhafaza etmek için bir antioksidan savunma mekanizmasına sahiptirler (4, 16, 72, 77).

2.10.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar farklı yöntemlerle sınıflandırılabilir (72).

- 1) Fonksiyonlarına göre antioksidanlar;
 - a- Koruyucu antioksidanlar
 - b- Zincir kırıcı antioksidanlar

- 2) Lokalizasyonlarına göre antioksidanlar;
 - a- Hücre içi antioksidanlar
 - b- Hücre dışı antioksidanlar
 - c- Membranla ilişkili antioksidanlar

- 3) Çözünürlüklerine göre antioksidanlar;
 a- Suda çözünebilir antioksidanlar
 b- Yağda çözünebilir antioksidanlar
- 4) Korudukları yapılara göre antioksidanlar;
 a- DNA koruyucu antioksidanlar
 b- Protein koruyucu antioksidanlar
 c- Lipid koruyucu antioksidanlar
- 5) Kaynaklarına göre antioksidanlar;
 a- Ekzojen antioksidanlar
 b- Endojen antioksidanlar
 c- Sentetik antioksidanlar
- 6) Yapılarına göre antioksidanlar;
 a- Enzimatik antioksidanlar
 b- Non-enzimatik antioksidanlar

Tablo 2.2. *Fonksiyonlarına göre antioksidanların sınıflandırılması.*

Fonksiyon	Örnekler
Koruyucu antioksidanlar	Enzimler: Süperoksit dismutaz enzimleri(1,2 ve 3), katalaz, glutatyon peroksidaz, DNA tamir enzimleri
	Metal iyonu sequestratörleri: Albumin, laktoferrin, transferin, haptogloblin, seruloplazmin, hemopeksin, karotenoidler, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, ürik asit, polifenolik flavenoidler
Zincir kırıcı antioksidanlar	Askorbat (vitamin C), karotenoidler (retinol ve vitamin A), ürik asit, α -tokoferol (vitamin E), polifenoller (flavenoidler), bilirubin, albumin, ubiquinon (indirgenmiş formu), indirgenmiş glutatyon, tiyoller (serbest veya protein bağlı)

Tablo 2.3. Lokasyonlarına göre antioksidanların sınıflandırılması

Lokasyon	Örnekler
Hücre içi	Süperoksit dismutaz enzimleri 1 ve 2, katalaz, glutatyon peroksidaz, DNA tamir enzimleri, indirgenmiş glutatyon, ubiquinon (indirgenmiş formu)
Hücre dışı	Süperoksit dismutaz enzimi 3, selenyum- glutatyon peroksidaz, indirgenmiş glutatyon, laktoferrin, transferin, haptogloblin, seruloplazmin, albumin, askorbat, karotenoidler, ürik asit
Membranla ilişkili	α - tokoferol

Tablo 2.4. Çözünürlüklerine göre antioksidanların sınıflandırılması

Çözünürlük	Örnekler
Suda çözünebilir	haptogloblin, seruloplazmin, albumin, askorbat, karotenoidler, ürik asit, polifenolik flavenoidler, indirgenmiş glutatyon ve diğer tiyoller, sistein, transferrin
Yağda çözünebilir	α - tokoferol, karotenoidler, bilirubin, quinonlar (indirgenmiş ubiquinon)

Tablo 2.5. Korudukları yapılara göre antioksidanların sınıflandırılması

Etki modu	Örnekler
DNA koruyucu antioksidanlar	Süperoksit dismutaz enzimleri 1 ve 2, glutatyon peroksidaz, DNA tamir enzimleri, indirgenmiş glutatyon, sistein
Protein koruyucu antioksidanlar	Koruyucu antioksidanlardan geçiş metallerinin atılması
	Rakip substratların süpürülmesi
	Antioksidan enzimler
Lipid koruyucu antioksidanlar	α - tokoferol (Vitamin E), askorbat (Vitamin C), karotenoidler, indirgenmiş ubiquinon, indirgenmiş glutatyon, glutatyon peroksidaz, bilirubin

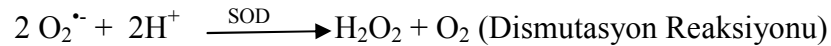
Tablo 2.6. Kaynaklarına göre antioksidanların sınıflandırılması.

Kaynak	Örnekler
Ekzojen antioksidanlar	Karotenoidler, askorbik asit, tokoferoller, polifenoller, folik asit, sistein
Endojen antioksidanlar	Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz, indirgenmiş glutatyon, seruloplazmin, transferin, ferritin, glikozilazlar, peroksizomlar, proteazlar
Sentetik antioksidanlar	N-asetilsistein, penisilamin, tetrasiklinler

2.10.2. Enzimatik Antioksidanlar

2.10.2.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit Dismutaz (SOD), süperoksit radikalini hidrojenperoksite dönüştürülmesini katalize eden bir metaloenzimdir (5, 77, 80, 86) . Süperoksit radikalini SOD aracılığı ile hidrojen perokside dönüştüren bu reaksiyon dismutasyon reaksiyonu olarak bilinmektedir.



Dismutasyon reaksiyonu, kendiliğinden de meydana gelebilmekte, ancak SOD ile katalizlendiğinde reaksiyon hızı 4000 kat artmaktadır (157).

SOD'un; bakır çinko içeren SOD (CuZn SOD), manganez içeren SOD (Mn SOD) ve demir içeren SOD (Fe SOD) gibi alt grupları mevcuttur.

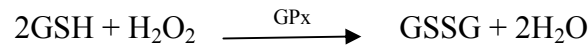
İnsanlarda iki farklı intraselüler SOD (CuZn SOD ve Mn SOD) ve ekstraselüler SOD olmak üzere 3 farklı SOD izoenzimi bulunmaktadır (5, 82, 158, 159). Isıya karşı oldukça dirençli olan CuZn SOD, temel intraselüler SOD'dur, çok stabildir ve kolaylıkla izole edilebilir. Mn SOD, başlıca mitokondri matriksinde yerleşmiştir ve mitokondriyal SOD olarak bilinir ancak

mitokondri dışında da bulunabilmektedir (159, 160). Ekstraselüler CuZn SOD (EC-SOD) , ekstraselüler alanlarda fonksiyon görür ve glikolize yapıya sahiptir (5, 161). Ancak EC-SOD'un ekstraselüler sıvılardaki aktivitesi oldukça düşüktür ve biyolojik ilgisi azdır (5, 77, 161). EC-SOD'un en önemli özelliği heparine kuvvetli afinite göstermesidir (82) .

SOD aynı zamanda, periodontal ligamente de lokalize olmakta ve gingival fibroblastlarda süperoksit salınımına karşı önemli bir defans mekanizması sergilemektedir (162).

2.10.2.2. Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon Peroksidaz (GPx), glutasyonu (GSH) indirgeyici ajan olarak kullanan, selenyum içeren bir enzimdir ve hidrojen peroksiti ve çeşitli hidroperoksitleri detoksifiye etmektedir (163).



GPx'in gen ekspresyonunun, hidrojenperoksit ve diğer ROT tarafından up-regüle edildiği rapor edilmiştir (163, 164). Plazma glutasyon peroksidaz (eGPx), GPx ailesinin en önemli üyesidir (165). eGPx, insanlarda esas olarak böbreklerin proksimal tübüllerinde üretilir (164, 167) ancak DOS'taki eGPx'in asıl kaynağı tam olarak bilinmemektedir (163).

GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (167, 168). Sigara kullanan bireylerin solunum epiteli hücrelerinde ve alveoler makrofajlarında eGPx mRNA ekspresyonunun arttığı rapor edilmiştir (169).

2.10.2.3. Katalaz

Katalaz (KAT), SOD tarafından başlatılan detoksifikasyon reaksiyonunu, hidrojenperoksiti, su ve moleküler oksijene çevirerek tamamlamaktadır (170).



Canlı hücrelerde KAT enzimi başlıca peroksizomlarda lokalize olmaktadır. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve kloroplastlarda da az miktarda KAT bulunmaktadır (170, 171).

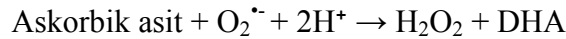
Ekstraselüler ortamda KAT'ın etkisini GPx sağlamaktadır. GPx veya KAT miktarında artış olmaksızın SOD üretiminde artış olduğunda hidrojen peroksit birikimi gözlenir. KAT, hidrojen peroksit ile metil ve etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşı indirgeyici etkiye sahiptir ancak büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmemektedir (68).

2.10.3. Enzim Olmayan Antioksidanlar

2.10.3.1. Askorbik asit

Askorbik asit (C vitamini), antioksidan, antikarsinojenik ve immünmodülatör aktiviteleri olan, önemli bir suda çözünebilen vitamindir (172-174). Çoğu dokuda ve plazmada askorbat şeklinde bulunur. C vitamini, süperoksit, hidrojen peroksit, hipoklorik asit, hidroksil radikali, peroksil radikali ve singlet oksijen temizleyici etki göstermektedir (78).

Güçlü bir indirgeyici ajan olan askorbik asit, süperoksit ve hidroksil radikaliyle reaksiyona girerek semi-dehidroaskorbat radikali (DHA)'ne dönüşür.



Askorbik asitin, düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu önlemede α - tokoferolden daha etkili olduğu gösterilmiştir (175). C vitamini membrana bağlı okside E vitamini rejenerasyonuna da katkıda bulunur. Lökositlerin, fagositoz sırasında oksidatif türlerden korunmak için C vitamini depoladığı bilinmektedir. Aynı zamanda, kollojen sentezinde yer alan fibroblastlar da normal hücre gelişimi için C vitaminine ihtiyaç duymaktadırlar (172-176).

C vitamini, Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeyen süperoksit dışındaki tek hücresel ajandır. Bu özelliği ile fenton reaksiyonunun oluşumuna, dolayısıyla süperoksit oluşumuna yardımcı olmaktadır (68, 177). Aynı zamanda C vitamininin oksidasyonunda doğrudan hidrojen peroksit meydana

gelebilir. Bu özelliklerinden dolayı C vitamininin bir pro-oksidan etkisi olduğu kabul edilmektedir. Ancak bu etkisinin yalnızca düşük konsantrasyonlarda görüldüğü (0,2 mM'dan az), yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olduğu rapor edilmiştir (68).

Epidemiyolojik çalışmalar, plazma C vitamini düzeyiyle periodontitis şiddeti arasında negatif bir ilişki olduğunu göstermektedir (178, 179). Bazı çalışmalar C vitamininin rejenere olan periodontal dokulardaki kollojen liflerin sayısını arttırdığını ve gingival inflamasyonda yer alan histamini detoksifiye ettiğini belirtmektedirler (172, 173).

C vitamini alımı, periodontal lezyonlarda proinflamatuvar sitokinlerin ve nitrik oksitin üretimini azaltarak gingival oksidatif stresi azaltabilmektedir. C vitamininin osteoklastik aktiviteyi azaltabildiği gösterilmiştir, ancak kemik formasyonunu arttırıcı etkisi bilinmemektedir (173).

2.10.3.2. α -Tokoferol

α -Tokoferol (E Vitamini), peroksil radikalini yakalayarak lipid peroksidasyonuna karşı hücre membranının bütünlüğünü koruyan en önemli ve etkili, yağda çözünebilir antioksidandır (72).

E vitamini, yağ sindirimi esnasında gastrointestinal kanaldan absorbe edilir. Karaciğerde metabolize olur, idrar ve safra yoluyla atılır (180). Vücuttaki E vitaminin büyük kısmı adipoz dokuda lokalize olur ve hücre membranı, mitokondri ve endoplazmik retikulumun fosfolipitlerinde yoğunlaşır (181).

Besinler içinde en fazla bulunan ve en güçlü E vitamini etkinliği gösteren antioksidan α -tokoferoldür (181, 182). Yağda çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle kolayca membran fosfolipidlerine diffüze olabilmekte ve tüm hücre membranlarını stabilize edebilmektedir (183).

E vitaminin kimyasal yapısı 6-kromonol halkası ve üçü asimetrik olan 16-karbonlu isoprenoid bir lateral zincirden meydana gelir. Yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik

halka, aktif kısmını oluşturur ve molekülün antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır (181, 183).

E vitamini, protein kinaz C'yi ve trombosit agregasyonunu, vasküler endotelden nitrik oksit üretimini ve makrofaj ve nötrofillerden süperoksit üretimini inhibe ederek hem antiinflamatuvar hem de antioksidan etki göstermektedir (72).

E vitamininin immün cevabı stimüle ettiği de bilinmektedir. Bu özelliği ve serbest radikal yakalayıcı etkileriyle kanser başlangıcını inhibe ettiği bildirilmiştir (150). E vitamininin kollajen yıkımını azaltıcı etkisi nedeniyle, peridontitis gibi yıkıcı inflamatuvar hastalıkların tedavisinde ve yara iyileşmesinin hızlandırılmasında kullanılabileceği gösterilmiştir (184).

2.10.3.3. Karotenoidler

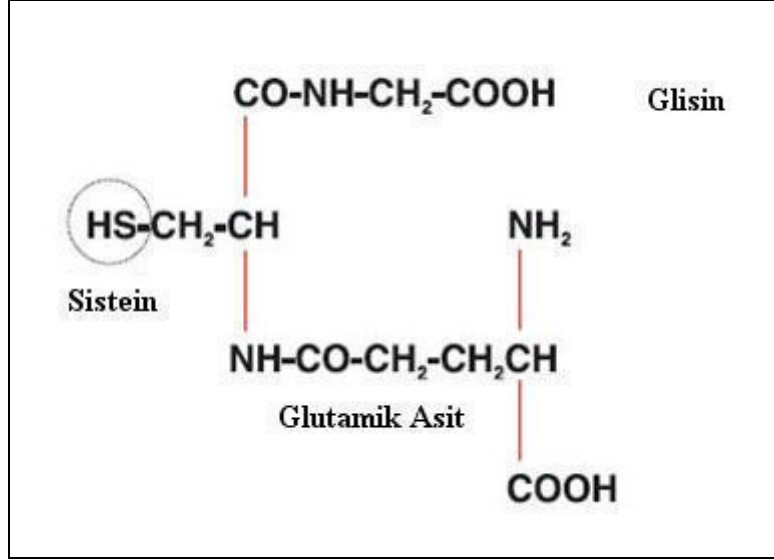
A vitamininin metabolik öncüsü olan karotenoidler, bitkilerdeki pigmente mikroblesinlerdirler (182). Gastrointestinal kanaldan absorbe edilerek vücutta antioksidan etki gösterirler. Karotenoidler, lipofilik yapıda olup, yüksek plazma konsantrasyonlarında çeşitli inflamatuvar ve malign hastalıklara karşı koruyucu etkiye sahiptir (185).

600'den çok çeşidi olan karotenoidlerin en önemlileri likopen, α -karoten, β -karoten, lutein, kriptoksantin, retinol (A_1 vitamini) ve dehidroretinol (A_2 vitamini) dır (185). Plazmadaki baskın karotenoid, likopendir (186). β -karoten üzerinde en fazla çalışma yapılan karotenoiddir ve iki A vitamini molekülünün birleşmesi sonucu oluşur. β -karoten güçlü bir singlet oksijen temizleyicisidir. İn vitro olarak β -karoten'in oksidasyonunun doza ve oksijen konsantrasyonuna bağlı olduğu rapor edilmiştir (182). Yüksek oksijen konsantrasyonundaki prooksidan davranışı çevre dokularda zararlı etkilere neden olabilmektedir (187).

2.10.3.4. Glutatyon

Glutatyon, non-esansiyel bir tri-peptid olup hücrede sentez edilebilmektedir, ancak bileşenlerindeki aminoasitler esansiyeldir ve diyetle alınmaktadır. Glutatyon, okside (GSSG) ve indirgenmiş (GSH) formda bulunmaktadır. Temel intraselüler antioksidan olan GSH, insan

fizyoloji ve patolojisinde major rol oynamaktadır (188). İntraselüler GSH:GSSG oranının, doğuştan gelen immün sistemin pro-inflamatuar yanıtını regüle eden NF-κB gibi anahtar gen transkripsiyon faktörlerinin temel yürütücüsü olduğu gösterilmiştir (72, 188, 189).



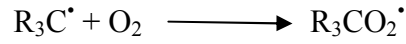
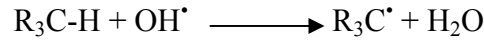
Şekil 2.7. İndirgenmiş glutatyonun yapısı (72)

GSH'nin intraselüler konsantrasyonu yüksek (0,1-10 mM), ekstraselüler sıvı konsantrasyonu düşüktür (insan plazmasında 2 mM) (188, 190). Ancak, DOS'un GSH konsantrasyonunun yüksek olduğu gösterilmiştir (188, 189).

2.10.3.5. Ürik Asit

Pürin metabolizmasının sonuç ürünü olan ürik asit vücut sıvılarında 0,5mmol/l oranında bulunur. Singlet oksijen, peroksil radikali, hidroksil radikali, hipoklorik asit ve ozon için güçlü bir temizleyicidir ve in vivo antioksidan olarak kabul edilir (72, 191).

Ürik asitin hidroksil radikali ile reaksiyonundan karbon merkezli radikaller ve bunların da oksijenle reaksiyonundan urat peroksil radikalleri ($R_3CO_2^{\bullet}$) meydana gelmektedir.



Ürat peroksil radikalleri hidroksil radikali kadar reaktif olmasalar da tam olarak zararsız kabul edilmezler, alkol dehidrojenaz ve α -antiproteinaz enzimlerini inhibe edebilirler (68, 72, 191).

Askorbat ile kombine olduğunda α_1 -antitripsini koruması ile metal iyonlarına bağlanarak Fenton reaksiyonlarını önlemesi ürik asitin diğer antioksidan aktiviteleridir (72).

Ürik asitin tükürükteki major antioksidan olduğu (>%70) rapor edilmiştir (190).

2.10.3.6. Melatonin

Melatonin'in (MLT) hidroksil radikali, hidrojen peroksit, süperoksit, hipoklorik asit, nitrik oksit ve peroksinitrit gibi serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir (192).

MLT'nin lipofilik bir madde olması nedeniyle, vücudun her bölgesine kolaylıkla girebilme özelliği vardır ve bu nedenle yüksek oranda antioksidan etki göstermektedir. MLT, hücre çekirdeğine girebilmesi ve DNA'yı oksidatif hasardan koruması nedeniyle diğer antioksidanlara göre daha üstün özelliklere sahiptir (68).

MLT'nin; SOD, GPX, glutatyon redüktaz, glukoz 6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ve glutamilsistein sentetaz gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini artırabilmesi ve sonuç olarak oksidatif stresi baskılayabilmesi bir diğer üstün özelliğidir. Aynı zamanda; MLT'nin bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azalttığı ve antioksidan sistemi desteklediği bildirilmiştir (192).

2.10.3.7. Sistein

Sistein'in süperoksit ve hidroksil radikali temizleyicisi olduğu bilinmektedir (68).

2.10.3.8. Albümin

Albumin; lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe edici özelliğe sahiptir. Kanda serbest yağ asitlerinin taşınmasından sorumludur ve aynı zamanda etkili bir hipoklorik asit temizleyicisidir (191, 193).

2.10.3.9. Seruloplazmin

Seruloplazmin, bakır içeren bir protein olup, Fe^{+2} 'yi Fe^{+3} 'e yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu, dolayısıyla serbest radikal oluşumunu inhibe eder. İnsan plazmasının antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmından sorumlu olan seruloplazmin aynı zamanda bir akut faz proteinidir ve seruloplazmin miktarındaki artış hücrel hasara karşı antioksidan cevaptaki artışın göstergesi olabilmektedir (193).

2.10.3.10. Haptoglobin

Haptoglobin, lipid peroksidasyonunu stimule eden hemoglobini bağlayan bir plazma proteinidir. Hem'i bağlayan hemopeksin gibi, demir içerikli bileşikleri ortamdan uzaklaştırarak antioksidan etki göstermektedir (134).

2.10.3.11. Transferrin ve Laktoferrin

Normal insan plazmasında bulunan transferin serbest demir iyonlarını bağlayarak lipid peroksidasyonunu engellemektedir (134).

Laktoferrin, PMNL'lerin spesifik granüllerinde bulunan, demir bağlayıcı bir proteindir (194). Bakterileri, yaşamları için gerekli olan demirden yoksun bırakabilir ve aynı zamanda Fenton reaksiyonlarının ilerlemesini engelleyebilir (163). Bu nedenle laktoferrin, hem antimikrobiyal bir ajan hem de koruyucu bir antioksidandır.

2.10.3.12. Bilirubin

Albümüne bağlı olarak bulunan safra pigmenti bilirubin, albümüne bağlı yağ asitlerini lipid peroksidasyonuna karşı koruyarak antioksidan etki göstermektedir (103).

2.10.3.13. Ferritin

Ferritin dokulardaki demiri bağlayarak serbest radikal oluşumunu baskılamaktadır (195).

2.10.4. Diğer Antioksidanlar

2.10.4.1. Koenzim Q

Koenzim Q (CoQ10), vücut tarafından sentez edildiği bilinen tek lipofilik antioksidandır (182). Neredeyse tüm canlı hücrelerde yer alır ve mitokondri tarafından enerji üretilmesi için gereklidir. Aynı zamanda, CoQ10'nun serbest radikal kaynaklı nörodejeneratif hastalıklarda önemli antioksidan rolü olduğu gösterilmiştir (72, 75).

2.10.4.2. Retinoidler

Retinol ve retinoik asidin antioksidan aktiviteleri olduğu bilinmektedir (196).

2.10.5. Total Antioksidan Kapasite

Çeşitli antioksidanların serum ve tükürük konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir. Bununla birlikte, antioksidanların etkilerinin birbirlerine bağımlı olduğu ve bazı antioksidan moleküllerin incelenmesinin sınırlı bulguların elde edilmesine neden olduğu bilinmektedir. Yine bazı spesifik antioksidan türlerin, araştırılan patolojik durumda bir önemi olmasa bile diğer antioksidan sistemlerden izole edilmesi yanlış veri elde edilmesine neden olabilir (14). Dahası bu ölçümler, zaman alıcıdır, pahalıdır ve yoğun çalışma ve komplike tetkikler gerektirir (7). TAOK; incelenen biyolojik örneklerdeki antioksidanların tümünün antioksidan kapasitelerinin toplamı sonucunda elde edilen biyokimyasal bir parametredir (197). TAOK

araştırılması, daha iyi ve güvenilir bir yöntemdir (198). Ayrıca günümüzde henüz keşfedilmemiş antioksidan türlerin etkilerini de yansıtmaktadır (14).

TAOK, çeşitli single antioksidanları özetleyen bir parametre elde etmek amacıyla belirlenmektedir. TAOK, total protein (%85;başlıca albumin), ürik asit, bilirubin, karotenoidler, tokoferol ve askorbik asit antioksidan kapasitelerinin toplamından meydana gelmektedir (123, 199).

2.11. Periodontal Doku Yıkımında Reaktif Oksijen Türlerinin Rolü

Periodontal hastalıkların gelişiminde, birçok lokal ve sistemik faktörün rol oynadığı bilinmekle birlikte, primer etyolojik ajan bakteri plağıdır (200). Periodontopatojenik bakteriler, yıkıcı enzimleri ile periodontal dokularda doğrudan hasara neden olabilmektedir. Ancak subgingival bakteriler ve konak hücreleri arasındaki etkileşim sonucu meydana gelen konak yanıtı, periodontal patogeneizde daha kritik bir öneme sahiptir (81). Konak-mikroorganizma etkileşimi sonucunda konak savunma hücrelerinden büyük miktarlarda ROT salgılandığı gösterilmiştir (75, 77, 201, 202). ROT, patojenik bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olmakla birlikte, konak doku üzerinde de hasar oluşturuca etkiye sahiptir (79). Sonuç olarak; ROT ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması sonucu meydana gelen oksidatif stresin periodontal doku hasarında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (72, 203).

2.11.1. Periodontitiste Nötrofiller tarafından ROT üretimi ve Oksidatif Stres

Polimorfonükleer lökositler (PMNL) yani nötrofiller; dişeti bağ dokusu ve dişeti epitelindeki baskın inflamatuvar hücrelerdir(%96) (189). Akut iltihabi yanıtın sorumlu olan bu hücreler, gingival sulkustaki bakteriye karşı hücrel konak savunmasının ilk basamağını oluşturmaktadır (66, 75, 81). Patojenik bakteri ile nötrofiller arasındaki etkileşim, fagositoz ile sonuçlanan bir seri kompleks biyokimyasal olayı aktive etmektedir (66, 75).

Nötrofillerin ve monositlerin antimikrobiyal aktiviteleri oksijene bağımlı ve oksijenden bağımsız mekanizmaları içerir. Her iki sistem de, mikroorganizmaları yok etmek için ortaklaşa çalışmaktadır (204).

Oksijenden bağımsız mekanizmada, nötrofillerin stoplazmalarında yer alan azurofilik, spesifik ve jelatinaz granüllerdeki özel proteinazlar, antimikrobiyal peptit ve proteinler ve bazı enzimler rol oynamaktadır. Defensin gibi antimikrobiyal peptidler, bakteriyel membranları stabilize eden kanal şekillendirici proteinler, lizozim enzimi, nötrofil elastaz ve katepsin G gibi serin proteazlar fagozomla birleşerek antibakteriyel aktivite gösterirler (204). Nötrofillerin azurofilik granüllerinde yer alan nötrofil elastaz, ESM komponentlerinden olan plazma proteinlerini parçalayabilen en yıkıcı enzimlerdendir (205, 206). Nötrofil elastaz aktive olduğunda hızla ortama salınarak lokal doku hasarına neden olmaktadır (205). Nötrofiller aynı zamanda demir bağlayıcı protein olan laktoferrin içerirler ve bu yolla mikroorganizmaları öldürürler (207).

Oksijene bağımlı mekanizma periodontal doku yıkımını başlatabilen ROT üretimini içermektedir (81). Nötrofillerin bakterilerle etkileşimi sırasında, glikoliz, heksoz monofosfat şantı, NADPH oksidaz aktivitesi, peroksit oluşumu ve oksijen tüketimi artar (208).

Nötrofillerin plazma membranında, normal koşullarda inaktif durumda bulunan NADPH oksidaz enzim sistemi yer almaktadır (72, 76, 208). Sistem uyarı ile aktive olduğunda, NADP, elektron kaynağı olarak özellikle NADPH'ı kullanarak oksijeni süperoksit radikaline indirgeyip fagozom içerisine verir. Üretilen süperoksit radikali, fagozom içerisindeki düşük pH nedeniyle kendiliğinden dismutasyon ile hidrojen peroksit'e dönüşür. Fagozom içerisinde SOD ve katalaz bulunmadığından süperoksit ve hidrojen peroksit birikimi meydana gelir. Bu olaya *solunum patlaması* denir ve aktive nötrofilin önemli bir özelliğidir (116, 209).

Oksijene bağımlı mekanizmaların bir kısmı nötrofillerin azurofilik granüllerinde yer alan myeloperoksidaz (MPO) enzimine bağımlıdır. *Solunum Patlaması* sırasında MPO hidrojen peroksitten hipoklorik asit üreterek ortama verir (108). MPO, oksidatif olarak matriks metalloproteinaz'ları aktive ederken, doku inhibitörlerini (TIMP) inaktive etmektedir (205).

Bu nedenle yıkıcı periodontal hastalıkların patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (210).

MPO aktif iken oksidatif öldürme 6 kat hızlı gerçekleşmektedir. Bu nedenle MPO bağımlı öldürme nötrofillerin en tercih ettiği yoldur ve MPO yetmezliği olan bireylerde bakteri öldürülmesi büyük oranda nonoksidatif mekanizmalarla gerçekleştirilir (116).

Periodontitisin agresif ve kronik formunda, PMNL'ler fonksiyonel olarak aktif hale gelirler ve artmış ROT üretimi sergilerler (189, 202). Bu olay primer olarak bakterilerin öldürülmesine yöneliktir ancak ROT'un ekstraselüler yayılımı çevre dokuların yıkımına neden olur. Bu nedenle ROT, periodontal hastalık sırasındaki patolojik bağ dokusu yıkımından sorumlu tutulabilir (77).

PMNL'ler süperoksit üretebilmek için optimal oksijen konsantrasyonuna (en az ortalama %1) ve pH'a (ortalama 7-7,5) gereksinim duyarlar. Periodontal cepler, ortalama %1,8 oksijen konsantrasyonu ve ortalama 6,92 pH'ları ile PMNL'lerin süperoksit üretimi için uygun alanlardır (77).

Respiratuar burst mekanizmasının stimülasyonu sonucu, periferel kandaki PMNL'lerin süperoksit üretiminde artış olduğu bilinmektedir (77). Hızlı ilerleyen şiddetli periodontitis hastalarından alınan PMNL'ler, Porphyromonas gingivalisin lipopolisakkaritiyle inkübe edildiğinde, artmış süperoksit üretimi sergiledikleri gösterilmiştir. Periodontitisli hastaların plazmalarının, pro-inflamatuar sitokinler aracılığıyla, nötrofillerden süperoksit salınımını indüklediği rapor edilmiştir (211).

Kronik periodontitisli bireylerin periferel kan nötrofillerinde, in-vitro Fcγ-reseptör (FcγR) stimülasyonunu takiben, yaş ve cinsiyet açısından denkleştirilmiş sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında daha yüksek düzeyde ROT üretimi sergilendiği gösterilmiştir (72, 212). Ayrıca, in-vitro ortamda, ekzojenöz stimülasyonun yokluğunda da kronik periodontitisli bireylerin periferel nötrofillerinde ekstraselüler ROT salınımının arttığı gözlenmiştir (213).

Aktif periodontal hastalık sırasında fagositik hücrelerden ROT üretimi, bakterisidal etkinin yanı sıra osteoklastik stimülasyona da neden olmaktadır. Süperoksit ve hidrojen peroksit gibi belirli ROT, osteoklastların aktivasyonuna yol açarken nitrik oksit kemik rezorpsiyonunu inhibe etmektedir (77).

2.11.2. Total oksidatif durum ve periodontitis

ROT'un aşırı üretimine bağlı olarak oksidatif stres düzeylerinin arttığı ve bu durumun periodontal hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Kronik periodontitisli bireylerde, serum, tükürük ve DOS TOD düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre belirgin derecede yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bu durum kronik periodontitisli bireylerin oksidatif durumunda hem lokal hem de sistemik artış olduğunu göstermektedir (3, 61).

2.11.3. Lipid peroksidasyonu ve periodontitis

ROT'a bağlı periodontal doku hasarının ölçümünde, 4-HDA ve MDA gibi LPO sonuç ürünleri kullanılabilir. LPO sonuç ürünleri inflamasyon bölgesinden difüze olduğundan dolayı plazmada da ölçülebilmektedir (16).

Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda, periodontitisli bireylerin serum, tükürük, DOS ve dişeti dokularında MDA düzeyleri incelenmiş (3, 13, 16, 50, 54, 214-219) ve çalışmaların sonuçları bazı farklılıklar göstermekle birlikte, genel olarak DOS ve tükürük MDA düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin derecede yüksek olduğu ve hastalık şiddetiyle pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir. Bir diğer güncel çalışmada ise, periodontitisli bireylerde DOS MDA düzeyinin sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek olduğu ancak bu düzeyin serum ve tükürükte değişmediği bildirilirken (61), kronik apikal periodontitisli dokulardaki MDA düzeyinin aynı bireylerdeki sağlıklı dokulardan yüksek olduğu da rapor edilmiştir (215).

2.12. Antioksidanlar ve Periodontitis

2.12.1 Periodontal Hastalıkta Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidan Düzeyleri

Periodontitiste enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan düzeylerini serum, tükürük, DOS ve dişeti dokusunda inceleyen çalışmaların sonuçları farklılık göstermektedir (15). Bir grup araştırmacı, kronik periodontitisli hastaların DOS'unda artan süperoksit üretimine karşı antioksidan düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadığını bildirirken (77), bir diğer grup araştırmacı periodontal hastalık şiddetinin artışıyla dişeti dokularındaki SOD ve katalaz aktivitesinin azaldığını (3, 77), DOS eGPx düzeylerinin arttığını (163) ve cerrahi olmayan periodontal tedaviyle belirgin olarak azaldığını göstermiştir (164). Güncel çalışmalardan birinde ise, periodontitisli bireylerin plazma ve dişeti dokularında enzimatik antioksidan aktivitelerinin sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin derecede yüksek olduğu, non-enzimatik antioksidan düzeylerinin ise belirgin derecede düşük olduğu da rapor edilmiştir (16). Aynı zamanda, periodontal tedavide sıklıkla kullanılan tetrasiklinler ve klorheksidin gibi bazı antimikrobiyal kemoterapötik ajanların, doğrudan ROT yakalayarak ve PMNL'lerden süperoksit üretimini inhibe ederek antioksidan etki gösterdiği de ileri sürülmüştür (77).

2.12.2. Periodontal Hastalıkta Total Antioksidan Kapasitenin Değerlendirilmesi

TAOK'un periodontal sağlık ve hastalıktaki lokal ve periferik düzeyleri incelendiğinde, periodontitisli bireylerin serum, tükürük ve plazma TAOK düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin derecede düşük olduğu rapor edilmiştir (5, 63, 202, 220). Aynı zamanda, yine periodontitisli hastalarda tükürük ve plazma TAOK düzeylerinde sağlıklı kontroller ile kıyaslandığında belirgin bir değişiklik olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Tükürük antioksidan kapasitesindeki lokal azalmanın, artan DOS akışıyla kompanse edilmiş olabileceği belirtilmiştir (63).

Sonuç olarak, çalışmaların sonuçları farklılık gösterse bile elde edilen ortak görüş, periodontitisli bireylerin DOS ve tükürüğünde oksidan-antioksidan aktiviteleri arasında dengesizlik olduğu ve periodonsiyumun ROT'un yıkıcı etkilerine açık olduğunu üzerinedir.

2.13.Sigara ve Periodontal Hastalık

Sigara, bakteriyel plaktan sonra periodontal hastalık için en kuvvetli modifiye edilebilir risk faktörüdür. Sigara, periodontal hastalığın şiddeti ve prevalansını arttırdığı gibi, periodontal hastalığın etyolojisi ve patogenezi üzerinde de olumsuz etkilere sahiptir (1).

2.13.1.Sigaranın Periodontal Hastalığın Şiddeti ve Prevalansı Üzerindeki Etkileri

Sigara kullanan bireylerin, sigara kullanmayan bireyler ile karşılaştırıldığında daha fazla cep derinliği ve daha çok hastalıktan etkilenmiş alana sahip olduğu, buna bağlı olarak periodontal hastalığın daha şiddetli ve yaygın olduğu çeşitli bilimsel araştırmalar ile ortaya konmuştur (221-226).

Bu araştırmaların sonuçlarına göre; sigara içen bireyler, sigara içmeyen bireyler ile kıyaslandığında periodontal ataçman ve/veya kemik kaybının 2-8 kat arttığı (1), sigara kullanımı ile alveoler kemik kaybı arasında kuvvetli pozitif korelasyon olduğu rapor edilmiştir (227). Aynı zamanda, sigara kullanan bireylerin kullanmayanlardan daha kötü bir oral hijyene sahip oldukları bildirilmiştir (226). Ancak çok sayıda çalışma göstermiştir ki, sigara kullanan ve kullanmayan bireyler arasında periodontal hastalık prevalans ve şiddetinde gözlenen farklılıklar plak ve diştaşı seviyelerinden bağımsızdır (1).

Kullanılan sigara miktarı ile periodontitisin prevalans ve şiddeti arasında pozitif bir ilişki olduğu bilinmektedir (221). Ataçman kaybının şiddetinin günde 1 sigara ile %0.5, 10 sigara ile %5 ve 20 sigara ile %10 arttığı bildirilmiştir. Sigara kullanan bireyler, periodontal hastalığın daha ileri ve agresif formlarına yatkındırlar (228).

Spontan dişeti kanamasının ve sondlamada kanamanın sigara kullanan bireylerde kullanmayanlara kıyasla daha düşük düzeyde olduğu rapor edilmiştir (226). İnflamasyondaki azalmanın, partiküler faz sigara dumanının majör komponenti olan nikotinin, dişeti dokularındaki vasküler değişiklikleri indüklemesi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (229).

2.13.2.Sigaranın Periodontal Hastalığın Etiyolojisi ve Patogenezi Üzerindeki Etkileri

2.13.2.1.Mikrobiyolojik Etkileri

Sigara kullanan bireylerin oral kavitelelerinde meydana gelen dramatik anaerobiyozisin, anaerobik bakteri türlerinin gelişimini stimüle ettiği düşünülmektedir (230). Sigara ve komponentlerinin, *P.gingivalis*'in oral epitelyal hücrelere adherensini ve invazyonunu arttırdığı rapor edilmiştir (231).

Aynı zamanda, sigara dumanının, mikrobiyal ilişkili moleküler paternlerinde yapısal değişikliğe neden olarak, periodontal bakterilerin inflamatuvar potansiyellerinde düşüşe yol açtığı da bildirilmiştir (221).

2.13.2.2. İmmünolojik Etkileri

Sigaranın, infekte ve sağlıklı periodontal dokularda konak cevabında meydana getirdiği değişikliklerin, sigara ile ilişkili periodontal yıkımdan sorumlu olduğu düşünülmektedir (1).

Sigara kullanımı, nötrofil fonksiyonu, antikor üretimi ve fibroblast aktivitelerini azaltarak ve inflamatuvar mediatör üretimini arttırarak doğuştan gelen ve sonradan kazanılan immün yanıtlara ve dolayısıyla konak cevabına çeşitli yönlerden zarar vermektedir (1).

Sigara kullananların sistemik dolaşımlarında, total beyaz hücre ve granülosit sayılarında artış görülmektedir ancak gingival oluktaki PMNL sayısına etkisi belirgin değildir (1, 205). Fagositoz, süperoksit ve hidrojen peroksit üretimi, integrin salınımı ve proteaz inhibitörü üretimi gibi PMNL fonksiyonları, sigara veya çeşitli tütün ürünlerinin kullanımıyla değişebilmektedir. Bu değişikliklerin, sigaranın PMNL'lerin yıkıcı aktivitelerini ortaya çıkartması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (1).

Sigara kullananlarda kullanmayanlara kıyasla *Aa*'ya karşı IgG miktarı azalmıştır. IgG alt tiplerinin belirlenmesiyle birlikte, sigaranın total serum IgG₂'deki düşüşle ilişkili olduğu anlaşılmıştır ve serum IgG₂'nin *Aa*'ya karşı reaktif olduğu bilinmektedir (232).

Bazı çalışmaların sonuçları, sigara kullanımının B ve T hücrelerinin proliferasyonunu ve/veya fonksiyonunu inhibe ettiğini göstermektedir. Bir B hücresi büyüme faktörü olan ve bu nedenle antikor üretimini destekleyen interlökin 4'ün DOS düzeyinin, sigara ile negatif korelasyonu olduğu gösterilmiştir (233).

Proinflamatuvar sitokin ve prostaglandin seviyelerinde meydana gelen lokal ve sistemik artışın periodontal doku yıkımıyla ilişkili olduğu bilinmektedir (8). Konak sitokin seviyelerinin sigara kullanımından etkilendiği rapor edilmiştir (205). Myelositik hücrelerde, nikotinin ve primer metaboliti kotinin, *P.gingivalis*'e karşı proinflamatuvar sitokin yanıtını baskıladığı, anti-inflamatuvar sitokin IL-10'un salınımını ise indüklediği gösterilmiştir (234, 235). Keratinosit veya fibroblast kültürlerinde ise nikotinin, IL-1 α , IL-6 ve IL-8 salınımını arttırdığı gösterilmiştir (236). Klinik çalışmalara bakıldığında, sigara kullananlarda pro-inflamatuvar mediyatörlerin salınımında artış beklenmesine karşın, DOS'taki IL-1 ve IL-6 salınımının tipik bir şekilde azaldığı veya sigara kullanımından etkilenmediği görülmüştür. Proinflamatuvar sitokinlerdeki azalma, klinik inflamasyon bulgularındaki azalma ile tutarlıdır. Ancak, TNF- α ve IL-8 gibi diğer proinflamatuvar mediyatörlerin sigara kullananların DOS'unda kullanmayanlara kıyasla yüksek olduğu da rapor edilmiştir (1, 237).

2.13.2.3. Periodontal Tedavi Üzerindeki Etkileri

Sigara kullanan bireylerde cerrahi ve cerrahi olmayan periodontal tedaviye yanıt, sigara kullanmayan bireylere kıyasla daha düşük seviyededir (205, 221, 238-240). Sigara, periodontal dokuların rejeneratif fonksiyonlarını inhibe ederek yenilenme potansiyellerini düşürür (239). Ancak sigara kullanan bireylerde yara iyileşmesinde görülen azalmanın, *P.gingivalis* ve *T. forsythia* gibi subgingival patojenlerin kalıcı oluşundan kaynaklanabileceği de bildirilmiştir (238).

İn vitro çalışmalarda ise, nikotinin gingival fibroblastların büyümesini, kollajen ve fibronektinin üretimini engellediği, kollajen yıkımını teşvik ettiği ve ayrıca nikotine maruz kalmış fibroblastlarda proliferasyonun azaldığı gösterilmiştir (241).

Tüm bu araştırmaların ve elde edilen bulguların ışığında, sigaranın periodontal hastalık için önemli bir risk faktörü olduğu kesinleşmiştir. Ancak tam olarak hangi mekanizma ile periodontal dokularda yıkıma neden olduğu konusunda halen bazı boşluklar bulunmaktadır.

2.14.Sigara, Oksidatif Stres ve Antioksidan Kapasite

Sigara; 400'ü kanserojen olduğu bilinen 4800'den çok farklı kimyasal madde içermektedir (242). Bu maddelerden, serbest oksijen radikalleri ile uçucu aldehitlerin biyomolekül hasarında önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (243).

Nikotin, sigara içindeki başlıca farmakolojik aktif madde olduğundan, serbest radikal üretimiyle ilişkili zararlı etkilerden sorumlu tutulmaktadır (244). Plazma proteinlerine % 5-20 oranında bağlanabilen nikotinin, kanda önemli değişikliklere yol açabileceği ve oksidatif stresi artırarak, antioksidan savunma mekanizmasını olumsuz yönde etkileyebildiği saptanmıştır. Doku ve serumda, trigliseritten zengin lipoproteinlerin sentez ve sekresyonunu arttırarak hiperlipidemik etkiye de neden olabilen nikotin (245), vitamin C ve vitamin E gibi antioksidanların plazma konsantrasyonlarını değiştirebilmektedir (246).

Çeşitli çalışmalarda, nikotinin hücrel protein sentezine ve metabolizmasına etki ettiği, timinin DNA'ya birleşmesini engellediği ve transmembran potansiyeli düşürdüğü gösterilmiştir. Nikotinin gözlenen bu toksisitesinin oksidatif hücrel hasardan kaynaklandığı düşünülmektedir (247).

Bazı çalışmalarda, nikotinin NO sentezini kontrol eden proinflamatuvar mediyatörleri inhibe ederek inflamasyonu baskıladığı belirtilirken, aynı zamanda, PDL hücrelerinde LPS ile indüklenen NO, iNOS, COX-2 ve PGE₂ sentezini arttırdığı da gösterilmiştir (229). Çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmesi, nikotinin inflamasyondaki bifazik rolü nedeniyle, konsantrasyona (248) ve hücre tipine (249) bağlı olarak farklı etkiler göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Nikotinin mitokondrial solunum zincirini kırarak süperoksit ve H₂O₂ oluşumunu arttırdığı rapor edilmiştir (247). Ayrıca, yüksek doz nikotin ve enantiyomerlerin hücre içi

metabolizması esnasında, sitokrom P450 enzimlerinin aktivitesi artarak, serbest radikal oluşumuna neden olabilmektedir (244).

Ancak oksidan etkilerinin tersine, Parkinson ve Alzheimer hastalığında nikotinin antioksidan mekanizmalar üzerinden koruyucu etkisi olduğu da düşünülmektedir (250). Ratlarda yapılan çok sayıda çalışmada, nikotin uygulamasının, öğrenme, hafıza, dikkat gibi çok sayıda bilişsel fonksiyon üzerine yararlı etkileri gösterilmiştir (247).

Nikotinin oksidatif stres oluşturucu veya antioksidan etkisinin, doza bağlı olduğu düşünülmektedir. Yüksek doz nikotinin oksidatif stresi stimule edip nörotoksisteyi indükleyebildiği, düşük konsantrasyonların ise antioksidan gibi davranıp nöroprotektif etkisinin olabileceği rapor edilmiştir (247). Aynı zamanda, nikotinin, düşük konsantrasyonda oksidatif stresi inhibe edebilmesi, lipid peroksidasyonunu uyaran H_2O_2 'nin nikotin tarafından inhibisyonuyla açıklanmıştır (251).

Kotinin, vücut sıvılarındaki nikotinin majör metaboliti olup, mevcut sigara kullanımının veya sigara dumanına ekspozun kesin bir indikatörüdür (11). Nikotinin kandaki yarılanma ömrü yaklaşık 30 dakika kadar, kotinin, 19 saat ile daha uzun bir serum yarılanma ömrü sergiler. Bu nedenle kotinin, sigara ile hastalıklar arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok sayıda çalışmada nikotin ekspozunun kimyasal bir belirleyicisi olarak kullanılmaktadır (252).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamıza, Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na periodontal sorunları nedeniyle ya da kontrol nedeniyle başvuran 126 birey dahil edildi. Tüm bireylere aydınlatılmış onam formu kapsamında çalışmanın içeriği ve yapılacak işlemler hakkında bilgi verildi ve onayları alındı. Aynı zamanda, çalışma için Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'na başvuruldu ve 2009/44 nolu etik kurul onayı elde edildi.

3.1. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi ve Klinik Çalışmalar

3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen Bireylerde Aranılan Kriterler

Tüm bireylerde, herhangi bir sistemik hastalığın bulunmaması, son 6 ay içerisinde herhangi bir ilaç tedavisi almamış olma, son 1 yıl içerisinde herhangi bir periodontal tedavi görmemiş olma, gebelik veya laktasyon döneminde bulunmama kriterleri arandı.

3.1.2. Çalışma gruplarının seçimi

Kronik Periodontitis grupları

Klinik ve radyografik inceleme sonucunda, kronik periodontitis tanısı konulan sigara kullanan ve kullanmayan bireyler çalışmanın periodontitis gruplarını oluşturdu. Sigara kullanan kronik periodontitis grubuna (S+P+); yaş ortalaması $36,75 \pm 8,93$ olan 17 kadın, 21 erkek toplam 38 birey, sigara kullanmayan periodontitis grubuna (S-P+); yaş ortalaması $35,87 \pm 8,65$ olan 16 kadın, 18 erkek toplam 34 birey dahil edildi.

Kontrol grupları

Çalışmanın kontrol grupları; sigara kullanan ve sigara kullanmayan periodontal açıdan sağlıklı bireylerden oluşmaktaydı. Sigara kullanan periodontal olarak sağlıklı kontrol grubuna (S+P-), yaş ortalaması $32,17 \pm 9,27$ olan 13 kadın, 15 erkek toplam 28 birey, sigara kullanmayan periodontal olarak sağlıklı kontrol grubuna (S-P-); yaş ortalaması $30,53 \pm 8,25$ olan 12 kadın, 14 erkek toplam 26 birey dahil edildi.

3.1.3. Hastaların Periodontal Durumlarının Belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerin periodontal cep derinliği (CD), klinik ataçman düzeyi (KAD), gingival indeks (Gİ), kanama indeksi (Kİ) ve plak indeksi (Pİ) ölçümleri kaydedildi. Ölçümler tek bir kişi tarafından, Williams Periodontal Sondu (Hu-Fridey) kullanılarak gerçekleştirildi.

3.1.3.1. Periodontal Cep Derinliği ve Klinik Ataçman Düzeyi Ölçümleri

Periodontal cep derinliği ve klinik ataçman düzeyi ölçümleri mevcut her dişin distobukkal, bukkal, meziobukkal, distolingual, lingual ve meziolingual bölgelerinden olmak üzere 6 noktada yapıldı. Milimetrik olarak kaydedilen değerlerin toplamı ölçüm yapılan toplam bölge sayısına bölünerek o birey için ortalama cep derinliği (CD) ve ortalama klinik ataçman düzeyi (KAD) değerleri hesaplandı.

3.1.3.2. Gingival İndeks

Dişetin klinik durumunu belirlemek amacıyla Loe ve Silness'in gingival indeksi (Gİ) kullanıldı (253). Her bir dişe ait Gİ değerleri toplanarak diş sayısına bölündü ve her birey için ortalama Gİ değerleri hesaplandı.

3.1.3.3. Kanama İndeksi

Dişeti kanamasının belirlenmesi amacıyla Ainamo ve Bay'ın gingival kanama indeksi (Kİ) kullanıldı (254). Hafif bir sondalamayı takiben on saniye içerisinde kanamanın görülmesi pozitif, görülmemesi negatif skoru belirledi. Pozitif skorların yüzdesi hesaplanarak her birey için Kİ değerleri belirlendi.

3.1.3.4. Plak İndeksi

Bakteri plağı miktarı Silness ve Loe'nin Modifiye Plak İndeksi (Pİ) ile belirlendi (255). Her bir dişe ait Pİ değerleri toplamı mevcut diş sayısına bölünerek her birey için ortalama Pİ değerleri belirlendi.

3.1.3.5. Radyografik Değerlendirmeler

Tüm bireylerden ortopantomograf ve periapikal radyograflar alındı.

3.1.4. Hastaların Sigara Kullanım Miktarlarının Belirlenmesi

Çalışmaya katılan bireylerin sigara kullanım miktarlarını belirlemek için günde kaç sigara içtikleri ve kaç senedir sigara içtikleri kaydedildi. Günde 5 taneden az sigara kullananlar ve iki yıldan az süredir sigara kullananlar çalışmaya dahil edilmedi. Sigara kullanmayan gruptaki bireylerin hayatlarında hiç sigara kullanmamış olmalarına dikkat edildi.

Hastaların sigara ekspozlarının gerçek tayini laboratuvar çalışmaları sırasında tükürük kotinin konsantrasyonlarının ölçülmesiyle belirlendi.

3.1.5. Örnekleme İşlemleri

3.1.5.1. Tükürük Örnekleri

Klinik periodontal parametrelerin ölçümünden 1 hafta sonra tükürük örnekleri alındı. Örnekleme işlemi, sabah erken saatte yapıldı. Hastaların en az 12 saat yemek yememesi, su dışında herhangi bir içecek içmemesi, sigara kullanmamış olması ve o sabah oral hijyen uygulamalarını yapmamış olmalarına dikkat edildi. Hastalar 5 dakika süreyle ağızları açık şekilde bekletilerek stimule edilmemiş tükürük örnekleri damlalık yardımıyla toplandı ve eppendorf tüplere aktarıldı. Elde edilen örnekler araştırma gününe kadar -80 derecede saklandı.

3.1.5.2. Serum Örnekleri

Kan örnekleri, tükürük örneklerinin alınmasını takiben aynı seansta, ve kan örneklerinin standardizasyonunun sağlanması amacı ile bireyler oturur pozisyondayken alındı. Örnekler 3000 rpm'de 10 dakika santrifuj edilerek serum elde edildi. Serum örnekleri eppendorf tüplere aktarılarak araştırma gününe kadar -80 derecede saklandı.

3.2. Laboratuvar Çalışmaları

Laboratuvar çalışmalarının tümü Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.2.1. Tükürük Kotinin Düzeylerinin Belirlenmesi

Hastaların tükürük kotinin düzeyleri, HPLC kullanılarak Machacek ve Jiang'ın (256) tanımladığı yöntemle belirlendi.

3.2.1.1. Kullanılan reaktifler ve cihazlar

Reaktifler

-Kotinin, 2-fenilimidazol, sodyum-1heptansülfonat, metanol, asetonitril, metilen klorür, potasyumfosfat (Sigma-Aldrich)

Cihazlar

Kromatografik gereçler: 255×4.6(i.d.)mm Altex Ultrasphere-IP, C18 reverse-faz kolon (5-µm partikül hacmi), HPLC kolon (ZORBAX Eclipse XDB-C18; 4.6×150mm; Agilent Technologies, Agilent 1100 series HPLC systems, Waldbronn, Germany).

3.2.1.2. Çalışma Prosedürü

Reaktiflerin Hazırlanması

Metanol içindeki 5.0 g/L kotinin standartı, kullanım gününe kadar +4⁰C’de saklandı (3 hafta boyunca stabil).

Analiz öncesinde kotinin standartı, asetonitril ve 50 mmol/L potasyumfosfat tampon karışımıyla dilue edildi (pH: 4.8, hacimce oran: 25/75).

Metanol içindeki 550 mg/L 2-fenilimidazol standart solüsyonu, çalışma gününe kadar +4⁰C’de saklandı (3 ay boyunca stabil).

Kromatografik mobil faz günlük olarak hazırlandı ve 170 mL asetonitril, 830 mL-0.05 mol/L potasyum fosfat ve 0.8 mmol heptansülfonik asitten oluşmaktaydı. Bu karışım, oda sıcaklığında pH4.8’e ayarlandı ve kullanım öncesinde gazlardan arındırıldı.

Ekstraksiyon

Tükürük örneklerinden 1mL alınarak 1.5 mol/L H₂SO₄'ün 70µL'si ile asitleştirildi. 3.12µmol/L 2-fenilimidazolün 100µL'si (standart solüsyonun 1:1000 seyreltilmiş) eklendi ve 15-mL'lik konikal vidalı kapaklı tüp içerisinde 2 dakika vorteksledikten sonra 8 dakika çalkalayıcıda karıştırıldı ve metilen kloridin 5 mL'si ile ekstrakte edildi. Ekstraksiyon sırasında meydana gelebilecek emilsiyon ultrasonik su banyosunda dağıtıldı.

Sıvı ve organik fazlar santrifügasyon ile ayrıldı (10 mm, 1000 x g), cam transfer pipetiyle metilen klorür fraksiyonu (alt faz) uzaklaştırıldı ve atıldı.

Kalan sıvı faza, 3.6 mol/L KOH'un 70µL'si eklenerek metilen klorürün 8mL'si ile ekstrakte edildi. Örnekler, 1000×g'de 10 dakika santrifüj edildi. Sıvı faz ayrılarak uzaklaştırıldı.

Organik faz, 0.1 mol/L NaOH'ın 1 mL'si ile yıkandı. Yıkanan metilen klorürün 5 mL'si 15-mL'lik konik cam tüpe pipetle aktarılarak 45⁰C'ye ısıtıldı ve çözücü azot gazı ile uçuruldu. Ekstraksiyon örnekleri analiz gününe kadar -80 derecede saklandı.

Analiz için -80 derecede saklanan ekstraksiyon örnekleri kromatografik mobil fazın 100 µL'si ile sulandırılarak 50 µL'si kromatografik sisteme enjekte edildi. Kromatografik akış hızı 1.0 mL/ dakika idi. Kotinin, 257 nm'deki absorpsiyonla belirlendi ve retansiyon zamanına göre tanımlandı (4.5 dakika). Örnek içindeki kotinin miktarı kalibrasyon grafiği ile hesaplanarak µg/L cinsinden ifade edildi.

3.2.2. Total Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

TAOK, Erel ve ark. (257) tarafından geliştirilen yöntem ile Rel Assay kitleri kullanılarak belirlendi. Kitler, araştırma gününe kadar 4 derecede muhafaza edildi.

Kitin temel prensibi, örnek içindeki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini, renksiz indirgenmiş ABTS formuna dönüştürmesine dayanmaktadır. 660nm'de absorpsiyonun değişmesi, örnekteki total antioksidan düzeyi ile ilişkilidir.

TAOK standardı olarak E vitamini analogu olan Trolox kullanıldı.

Komponentler

Analiz tamponu (Reaktif 1): 80ml

Renkli ABTS Radikal Solüsyonu (Reaktif 2): 15ml

Standart 1 (0.0mmolTrolox Equiv./L) Solüsyonu: 5ml

Standart 2 (1.0mmolTrolox Equiv./L) Solüsyonu: 5ml

Çalışma Prosedürü

- 160 mikrolitre Reaktif 1 üniteye konuldu ve 10 mikrolitre standart ve örnek eklendi. 660nm'deki başlangıç absorpsiyonu okunarak ilk absorpsiyon noktası belirlendi.
- 25 mikrolitre Reaktif 2 üniteye eklendi ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. 660nm'de ikinci kez absorpsiyon değeri okundu.

Sonuçların hesaplanmasında;

Δ Standart 1 Absorpsiyonu= (Standart1'in 2. Absorpsiyonu- Standart1'in ilk Absorpsiyonu)

Δ Standart 2 Absorpsiyonu= (Standart2'in 2. Absorpsiyonu- Standart2'in ilk Absorpsiyonu)

Δ Örnek Absorpsiyonu= (Örneğin 2. Absorpsiyonu- Örneğin ilk Absorpsiyonu)

formülleri kullanıldı.

3.2.3. Total Oksidatif Durumun Belirlenmesi

TOD tayininde, Erel ve ark. (131) tarafından geliştirilen yöntem ile Rel Assay kitleri kullanıldı. Kitler, araştırma gününe kadar 4 derecede muhafaza edildi.

Kitin temel prensibi; örnekler içindeki oksidanların ferröz iyon kompleksini ferrik iyonla okside etmektir. Ferrik iyon, asidik ortam içindeki kromojenle renkli bir kompleks meydana getirmektedir. Rengin yoğunluğu, spektrofotometrik yöntemle ölçüldü ve incelenen örnekler içindeki oksidan moleküllerin total miktarı belirlendi.

Analiz, H₂O₂ ile kalibre edildi ve sonuçlar litrede mikromolar H₂O₂ eşdeğeri olarak ifade edildi ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$).

Komponentler

Analiz Tamponu (Reaktif 1): 100ml×1

Prokromojen solüsyon (Reaktif 2): 20ml×1

Standart 1 solüsyonu (0.0 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$): 5ml

Standart 2 solüsyonu (800mM $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$): 5ml

Çalışma Prosedürü

Çalışma standart solüsyonu günlük olarak hazırlandı. Standart 2 solüsyonu deiyonize su ile 40.000 kez dilue edildi. 50 mikrolitre standart 2 solüsyonu 10ml deiyonize suya eklenerek karıştırıldı (İlk aşama dilüsyon).

Elde edilen solüsyonun 50 mikrolitresi, tekrar 10ml deiyonize suya eklenerek karıştırıldı (İkinci aşama dilüsyon).

Çalışma standartının final konsantrasyonu; 20 mikromolar H₂O₂ olarak belirlendi.

- 200 mikrolitre Reaktif 1 üniteye konuldu ve hazırlanan standarttan ve örnekten 30 mikrolitre eklendi. İlk absorpsiyon noktasını belirlemek için 530nm'de başlangıç absorpsiyonu okundu.
- 10 mikrolitre Reaktif 2 üniteye eklendi ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. 530nm'de ikinci kez absorpsiyon okundu.

Sonuçların hesaplanmasında;

Δ örnek absorpsiyonu= (Örneğin ikinci absorpsiyonu- örneğin ilk absorpsiyonu)

Δ standart 2 absorpsiyonu=(standart2'nin 2. absorpsiyonu- standart2'nin ilk absorpsiyonu)

formülleri kullanıldı.

3.2.4. Serum Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Serum lipid peroksit seviyesi ölçümü Yagi (258) yöntemiyle yapıldı. Lipid peroksidasyon ürünü MDA ile tiyobarbitürik asit arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk spektrofotometrik olarak ölçüldü. TBA ile reaksiyona girerek aynı rengi veren suda çözünür maddeleri uzaklaştırmak için serum lipidleri proteinle birlikte fosfotungstik asit/sülfirik asit sistemiyle çöktürüldü.

Çözeltilerin Hazırlanışı

1. 0,084 N sülfirik asit: 570 μ L %98'lik H₂SO₄ bir miktar su içeren balon jojeyle pipetlenip hacim 250mL'ye tamamlandı.

2. %10'luk fosfotungstik asit: 0.5 g H₃(W₃O₁₀) \times H₂O 4,5 mL deiyonize suda çözüldü.

3. Tiyobarbitürik asit (TBA) reaktifi: 0.67 g TBA %50'lik 100mL asetik asit çözeltisinde ısıtılarak çözüldü (günlük hazırlandı).

4. Standart çözeltileri: 0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 nmol (1,1,3,3-tetrametoksiopropan (TMP)) /mL: 164,7 µL TMP 0,01 M HCl ile 100 mL'ye tamamlandı ve 50⁰C'de 1 saat inkübe edildi. Bu 10 mM'lik stok çözeltilerden 10 µL alınıp 10 mL'ye deiyonize suyla tamamlanarak hazırlanan 10 µM'lik standarttan seri dilüsyonlar yaparak standart çözeltiler hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Tablo 3.1'de belirtilen şekilde pipetlemeler ve işlemler yapıldı.

Tablo 3.1. Serum MDA seviyesi ölçümü için reaksiyon karışımı

Reaktifler	Numune (mL)
Plazma	0.3
H ₂ SO ₄	2.4
Fosfotungstik asit	0.3
Hafifçe vortekslenerek 5 dakika beklendi. 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Üst faz atıldı.	
Deiyonize su	4.0
Çökelek vortekslenerek çözüldü.	
TBA reaktifi	1.0
1 saat kaynar su banyosunda tutuldu ve soğutuldu.	
n-bütanol	3.0

Tüpler vortekslenip n-bütanol karışımı sağlandıktan sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. N-bütanol fazı ayrıldı ve 532 nm'de n-bütanol'e karşı absorbanlar spektrometrede okundu.

Sonuçlar MDA için hazırlanan standart grafiğinden yararlanarak hesaplandı.

3.2.5. Tükürük Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Tükürük MDA düzeyleri, Young ve Trimble (259) tarafından geliştirilen yöntemin yüksek performans likit kromatografisi (HPLC) kullanılan bir modifikasyonu ile ölçüldü.

Örnekler, asidik şartlar altında ısıtılarak tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona sokuldu. Örneklerdeki pre-formed MDA, TBA ile reaksiyona girerek iki TBA ve bir MDA molekülünden oluşan TBA-MDA bileşimini oluşturur.

Örneklerin 100 µl'si %0,2'lik bütilendirilmiş hidroksi toluen 'in 10 µl'sine eklenerek 0.46M H₃PO₄'ün 600 µl'si ile karıştırıldı ve 10 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi.

%0,6'lık TBA'nın 200 µl'si tüplere eklendi, vortekslendi ve 90 derecede 30 dakika ısıtıldı.

Tüpler buzda soğutulduktan sonra örneklerin 400 µl'si, 720 µl metanol ve 1M NaOH'ın 80 µl'si ile karıştırılarak asit nötralize edildi ve protein içeriği çökteldi.

Süpernatant'ın 40 mikrolitresi, 12,000 g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra HPLC kolonuna (ZORBAX Eclipse XDB-C18; 4.6×150mm; Agilent Technologies, Agilent 1100 series HPLC systems, Waldbronn, Germany) yerleştirildi.

Kolon, 35:65 hacim oranında metanol: 25mM fosfat buffer içeren, pH 6,4 olan eluent ile 1ml/dak.'da 60 dakika dengelendi.

Eksitasyonu 536 nm ve emisyonu 555 nm olan floresan bir dedektör kullanıldı. MDA standartları (1.25–0.035 µM) tetraetoksipropan'dan hazırlandı ve tüm örneklerde aynı şekilde yer aldı.

3.2.6. Serum ve Tükürük Oksidatif Stres İndeksinin (OSİ) Ölçülmesi

Oksidatif stres derecesinin bir indikatörü olarak kabul edilen OSİ; TOD ve TAOK arasındaki oransal bir değerdir (7).

Aşağıdaki formül ile hesaplanmaktadır:

$$OSİ = [(TOD, \mu\text{mol/l}) / (TAOK, \text{mmol Trolox equivalent/l}) \times 100].$$

3.3. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler, SPSS programı kullanılarak yapıldı (SPSS for Windows, version 13,0, SPSS Inc, Chicago). Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Klinik ve laboratuvar verilerinin tümünün normal dağılım göstermediği belirlendi. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi ve Mann Whitney U testi ile yapıldı. Klinik parametreler ve laboratuvar parametreleri arasındaki ilişkiler, Pearson korelasyon analizi kullanılarak incelendi. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Bulgular

Genel sonuçlar için; yaş grubu ortalaması 34,19 iken standart sapma değeri 9,060'tır. Grupları incelediğimizde ise, en düşük yaş grubu ortalamasının 30,53 ile S-P- grubunda olduğu görülmekte iken, en yüksek yaş grubu ortalamasının 36,75 ile S+P+ grubunda olduğu görülmektedir (Tablo 4.1).

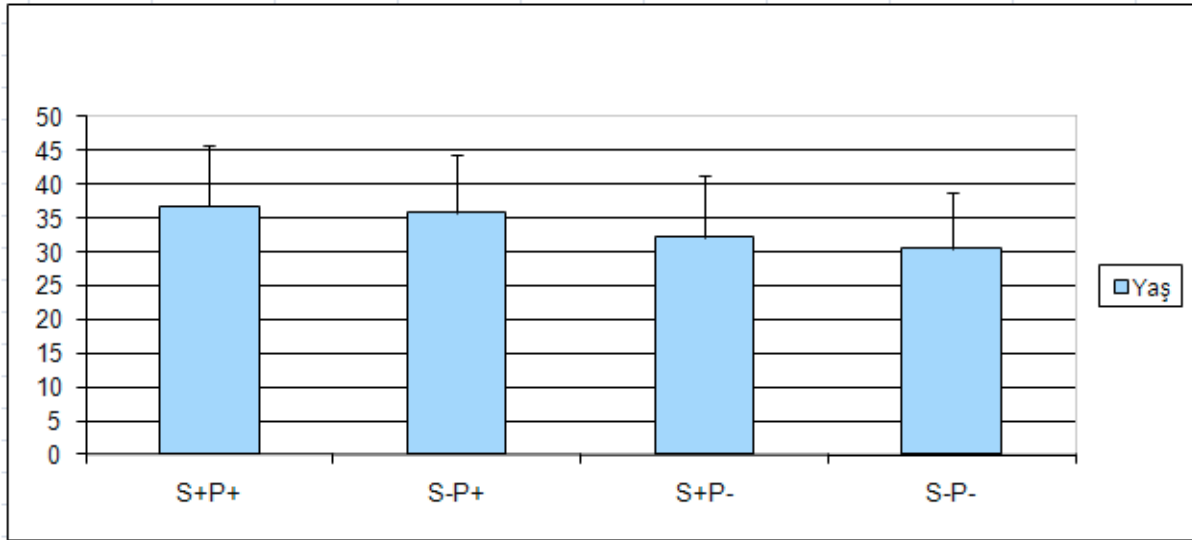
Tablo 4.1. Gruplararası yaş dağılımları

	Genel	S+P+	S-P+	S+P-	S-P-
N	126	38	34	28	26
\bar{X}	34,19	36,75	35,87	32,17	30,53
Std. Sapma	9,060	8,938	8,656	9,278	8,253

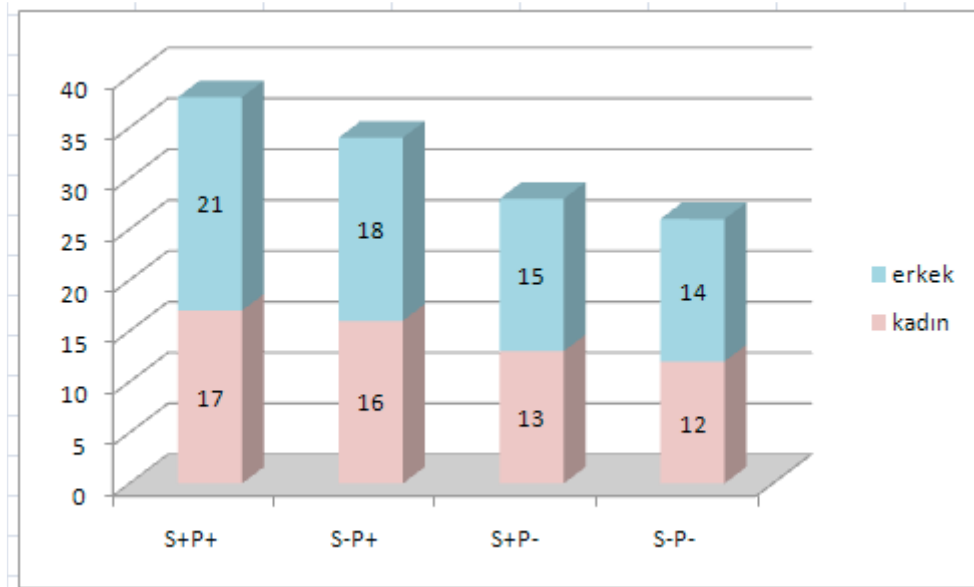
Genel sonuçlar için; araştırmaya 60 kadının ve 66 erkeğin katıldığı görülmektedir. S+P+ grubunda 17 kadın 21 erkek bulunmakta iken, S-P+ grubunda 16 kadın 18 erkek bulunmakta, S+P- grubunda 13 kadın 15 erkek bulunmakta ve S-P- grubunda ise 12 kadın ve 14 erkek bulunmaktadır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Gruplararası cinsiyet dağılımları

	Genel	S+P+	S-P+	S+P-	S-P-
Kadın	60	17	16	13	12
%	%47,6	%44,7	%47,0	%46,4	%46,1
Erkek	66	21	18	15	14
%	%52,4	%55,3	%53,0	%53,6	%53,9



Şekil 4.1. Gruplararası yaş dağılımları



Şekil 4.2. Gruplararası cinsiyet dağılımları

4.2. Klinik Bulgular

Klinik parametrelerin aritmetik ortalama değerleri tablo 4.3'te verilmiştir. Kronik periodontitisli hastaların [(S+P+), (S-P+)] tüm klinik periodontal parametreleri, periodontal olarak sağlıklı bireylere [(S+P-), (S-P-; kontrol)] göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksekti ($p<0.05$). Aynı zamanda, S+P+ grubu ile S-P+ grubu arasında ve S+P- grubu ile S-P- grubu arasında klinik periodontal parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktaydı ($p>0.05$) (Tablo 4.3).

4.3. Laboratuvar Bulguları

Tüm grupların serum TAOK, TOD, MDA ve OSİ değerleri tablo 4.4'te, tükürük TAOK, TOD, MDA ve OSİ değerleri tablo 4.5'te ve tükürük kotinin düzeyleri tablo 4.6'da verilmiştir.

TAOK

Serum TAOK, S+P+ grubunda diğer gruplara göre, S-P+ ve S+P- gruplarında kontrollere göre önemli derecede düşük bulundu ($p<0.05$). S+P- grubu, S-P+ grubuna göre daha düşük serum TAOK değerlerine sahip olmakla birlikte, her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (şekil 4.1).

Tükürük TAOK, S+P+ grubunda diğer gruplara göre önemli derecede düşük iken ($p<0.05$), diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Aynı zamanda, S+P- grubu, S-P+ grubuna göre daha düşük tükürük TAOK değerlerine sahip olmakla birlikte, her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (şekil 4.3).

En yüksek serum ve tükürük TAOK değerleri kontrollerde iken, en düşük değerler S+P+ grubunda gözlemlendi.

TOD

Serum ve tükürük TOD değerleri sigara ve/veya periodontitis gruplarında kontrollere göre önemli derecede yüksek iken ($p<0.05$), diğer gruplar arası tüm karşılaştırmalarda önemli bir

fark bulunmadı ($p>0.05$). En yüksek serum ve tükürük TOD değerleri S+P+ grubunda iken, en düşük değerler kontrollerde gözlemlendi. Bu bulguların yanı sıra, S+P- grubunun, S-P+ grubuna göre daha yüksek serum ve tükürük TOD değerlerine sahip olduğu belirlendi ($p>0.05$) (şekil 4.4).

LPO (MDA)

Serum MDA değerleri sadece S+P+ grubunda kontrollere göre önemli derecede yüksek iken ($p<0.05$), diğer gruplar arası tüm karşılaştırmalarda önemli bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Tükürük MDA, S+P+ grubunda diğer gruplara göre, S-P+ ve S+P- gruplarında kontrollere göre önemli derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). S+P- grubu, S-P+ grubuna göre daha yüksek serum ve tükürük MDA değerlerine sahip olmakla birlikte, her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (şekil 4.5). En yüksek serum ve tükürük MDA değerleri S+P+ grubunda iken, en düşük değerlerin kontrollerde olduğu gözlemlendi.

OSİ

Serum OSİ, S+P+ grubunda diğer gruplara göre, S-P+ ve S+P- gruplarında kontrollere göre önemli derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Tükürük OSİ, sigara ve/veya periodontitis gruplarında kontrollere göre önemli derecede yüksek iken ($p<0.05$), diğer gruplar arası tüm karşılaştırmalarda önemli bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Aynı zamanda, S+P- grubu, S-P+ grubuna göre daha yüksek serum ve tükürük OSİ değerlerine sahip olmakla birlikte, her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (şekil 4.6). En yüksek serum ve tükürük OSİ değerleri S+P+ grubunda iken, en düşük değerlerin kontrollerde olduğu gözlemlendi.

Kotinin

Tükürük kotinin değerleri sadece (S+P+) ve (S+P-) gruplarında ölçülebilmiş, diğer gruplarda belirlenememiştir. Sonuç olarak, sigara gruplarının [(S+P+), (S+P-)] tükürük kotinin değerleri, sigara içmeyen gruplara [(S-P-), (S-P-; kontrol)] göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksekti ($p<0.05$).

Tablo 4.3. Klinik parametrelerin, kronik periodontitisli [sigara kullanan (S+P+), sigara kullanmayan (S-P+)] ve periodontal olarak sağlıklı [sigara kullanan (S+P-), sigara kullanmayan (S-P-; kontrol)] gruplar arasında karşılaştırılması.

Klinik Parametreler	Gruplar	N	X±Standart sapma	Ortanca	Ki-Kare	p
CD	S+P+	38	3,58 ± 0,421*	3,57	103,039	0,000
	S-P+	34	3,52 ± 0,607‡	3,42		
	S+P-	28	1,19 ± 0,401	1,25		
	S-P-	26	1,2 ± 0,395	1,23		
KAD	S+P+	38	4,17 ± 0,739*	4,06	102,91	0,000
	S-P+	34	4,02 ± 0,837‡	3,84		
	S+P-	28	1,51 ± 0,557	1,55		
	S-P-	26	1,52 ± 0,571	1,45		
Gİ	S+P+	38	1,5 ± 0,495*	1,46	107,822	0,000
	S-P+	34	1,79 ± 0,325‡	1,75		
	S+P-	28	0,06 ± 0,089	0		
	S-P-	26	0,04 ± 0,082	0		
Kİ	S+P+	38	81,69 ± 18,421*	85,87	107,558	0,000
	S-P+	34	87,72 ± 11,663‡	88,87		
	S+P-	28	0,03 ± 0,06	0		
	S-P-	26	0,02 ± 0,048	0		
Pİ	S+P+	38	2,24 ± 0,538*	2,2	108,362	0,000
	S-P+	34	2,06 ± 0,436‡	2,02		
	S+P-	28	0,03 ± 0,079	0		
	S-P-	26	0,02 ± 0,059	0		

Kruskal–Wallis testi

* S+P+ grubu, S+P- ve S-P- gruplarından istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05)

‡ S-P+ grubu, S+P- ve S-P- gruplarından istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05)

CD, cep derinliği; KAD, klinik ataçman düzeyi; Gİ, gingival indeks;

Kİ, kanama indeksi; Pİ, plak indeksi

Tablo 4.4. Serum laboratuvar parametrelerinin, kronik periodontitisli [sigara kullanan (S+P+), sigara kullanmayan (S-P+)] ve periodontal olarak sağlıklı [sigara kullanan (S+P-), sigara kullanmayan (S-P-; kontrol)] gruplar arasında karşılaştırılması

Laboratuvar Parametreleri	Gruplar	N	X±Standart sapma	Ortanca	Ki-Kare	p
Serum TAOK (mmol Trolox Equiv./l)	S+P+	38	1,04 ± 0,280*†‡	1,1	47,951	0,000
	S-P+	34	1,26 ± 0,232*	1,24		
	S+P-	28	1,20 ± 0,143*	1,21		
	S-P-	26	1,46 ± 0,174	1,45		
Serum TOD (µmol H ₂ O ₂ Equiv./l)	S+P+	38	20,73 ± 7,522*	19,6	8,461	0,037
	S-P+	34	17,96 ± 3,71*	18,17		
	S+P-	28	18,87 ± 4,92*	19,71		
	S-P-	26	14,38 ± 5,219	14,76		
Serum MDA (nmol/ml)	S+P+	38	0,50 ± 0,550*	0,27	13,7	0,003
	S-P+	34	0,35 ± 0,322	0,21		
	S+P-	28	0,47 ± 0,558	0,27		
	S-P-	26	0,20 ± 0,13	0,16		
Serum OSİ	S+P+	38	2,25 ± 1,351*†‡	1,8	32,256	0,000
	S-P+	34	1,47 ± 0,492*	1,38		
	S+P-	28	1,59 ± 0,421*	1,57		
	S-P-	26	1,04 ± 0,385	1,03		

Kruskal–Wallis testi:

* S-P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05).

† S-P+ grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05).

‡ S+P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır(p<0.05).

TAOK, total antioksidan kapasite; TOD, total oksidatif durum; MDA, malondialdehit; OSİ, oksidatif stres indeksi

Tablo 4.5. Tükürük laboratuvar parametrelerinin, kronik periodontitisli [sigara kullanan (S+P+), sigara kullanmayan (S-P+)] ve periodontal olarak sağlıklı [sigara kullanan (S+P-), sigara kullanmayan (S-P-; kontrol)] gruplar arasında karşılaştırılması.

Laboratuvar Parametreleri	Gruplar	N	X±Standart sapma	Ortanca	Ki-Kare	p
Tükürük TAOK (mmol Trolox Equiv./l)	S+P+	38	0,46 ± 0,292*†‡	0,39	27,105	0,000
	S-P+	34	0,87 ± 0,457	0,86		
	S+P-	28	0,73 ± 0,424	0,95		
	S-P-	26	0,96 ± 0,433	1,05		
Tükürük TOD (µmol H ₂ O ₂ Equiv./l)	S+P+	38	7,14 ± 5,137*	6,39	7,951	0,047
	S-P+	34	5,95 ± 1,83*	6,14		
	S+P-	28	6,51 ± 2,186*	6,39		
	S-P-	26	3,09 ± 4,632	0,46		
Tükürük MDA (nmol/ml)	S+P+	38	0,10 ± 0,035*†‡	0,09	49,582	0,000
	S-P+	34	0,07 ± 0,038*	0,06		
	S+P-	28	0,08 ± 0,045*	0,07		
	S-P-	26	0,04 ± 0,016	0,04		
Tükürük OSİ	S+P+	38	3,85 ± 8,565*	1,72	32,106	0,000
	S-P+	34	1,82 ± 3,891*	0,69		
	S+P-	28	2,57 ± 4,508*	0,68		
	S-P-	26	0,47 ± 0,562	0,23		

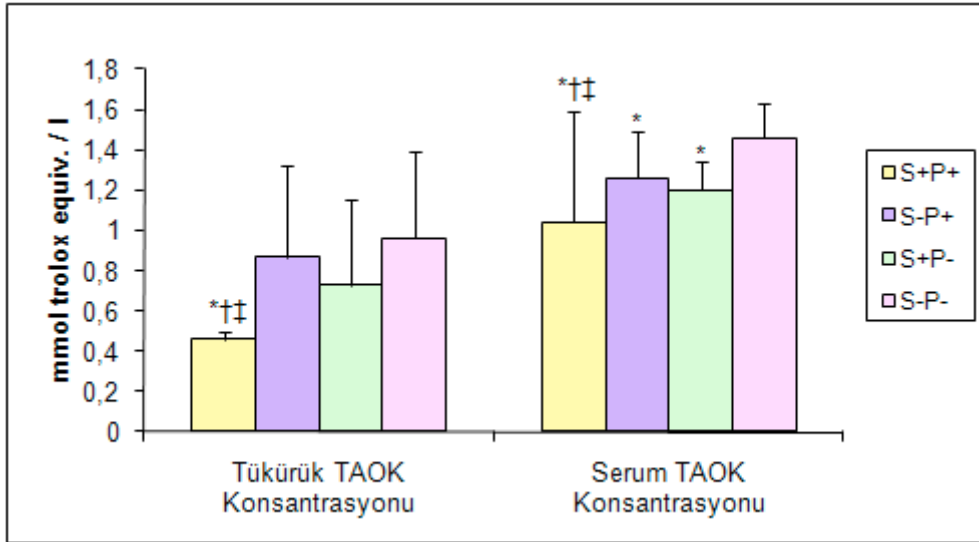
Kruskal–Wallis testi:

* S-P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05).

† S-P+ grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05).

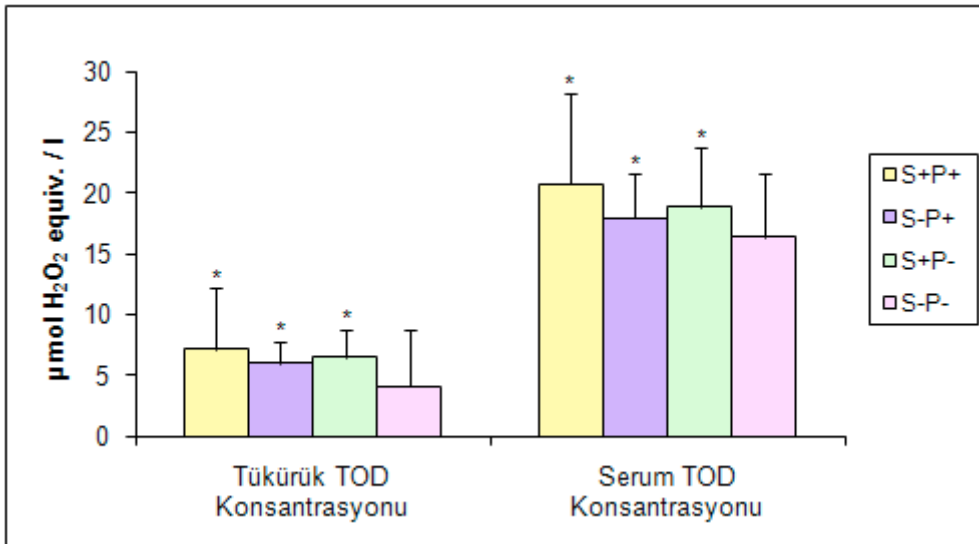
‡ S+P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır(p<0.05).

TAOK, total antioksidan kapasite; TOD, total oksidatif durum; MDA, malondialdehit; OSİ, oksidatif stres indeksi



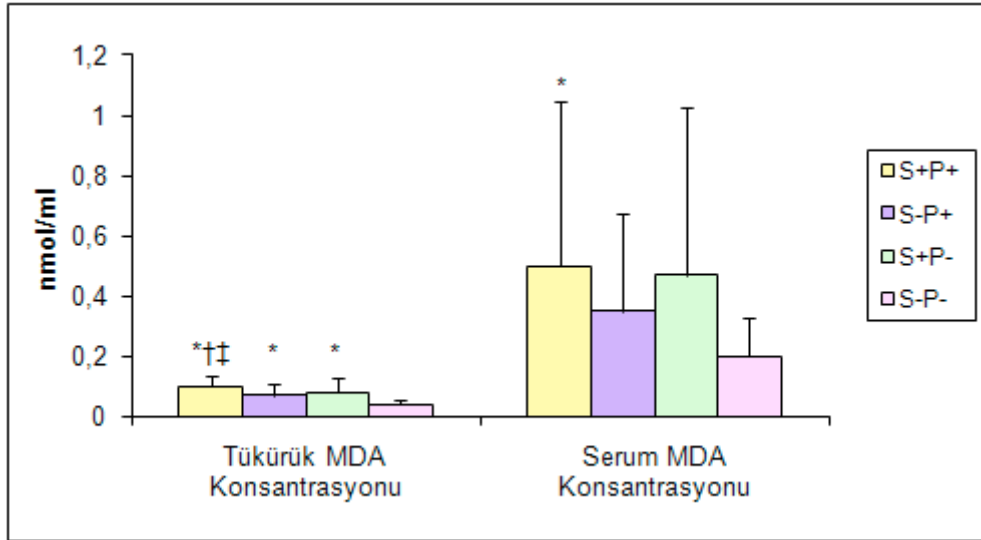
Şekil 4.3. Tükrük ve serum TAOK konsantrasyonlarının gruplararası karşılaştırılması.

- * S-P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).
- † S-P+ grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).
- ‡ S+P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).



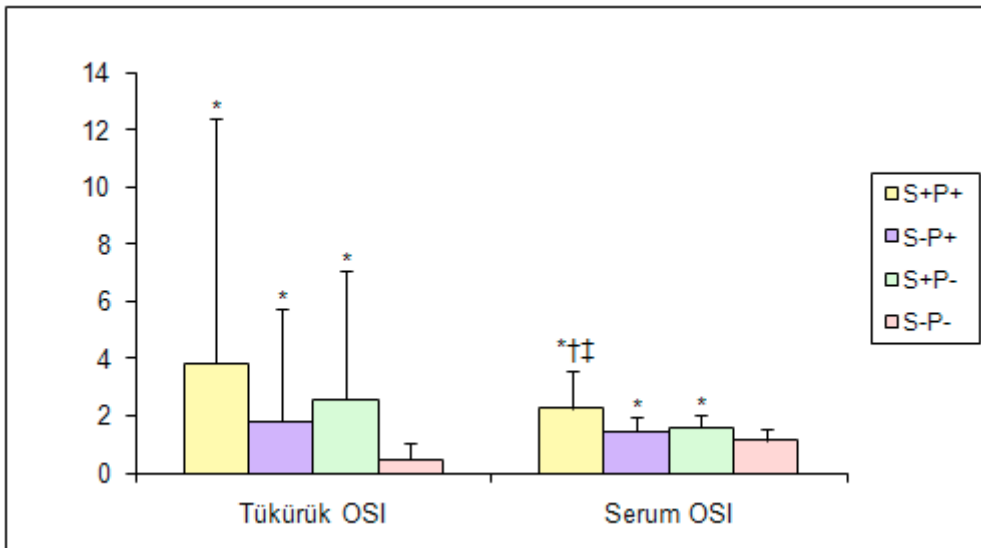
Şekil 4.4. Tükrük ve serum TOD konsantrasyonlarının gruplararası karşılaştırılması.

- * S-P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).



Şekil 4.5. Tükürük ve serum MDA konsantrasyonlarının gruplararası karşılaştırılması.

- * S-P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).
- † S-P+ grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).
- ‡ S+P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).



Şekil 4.6. Tükürük ve serum OSI değerlerinin gruplararası karşılaştırılması.

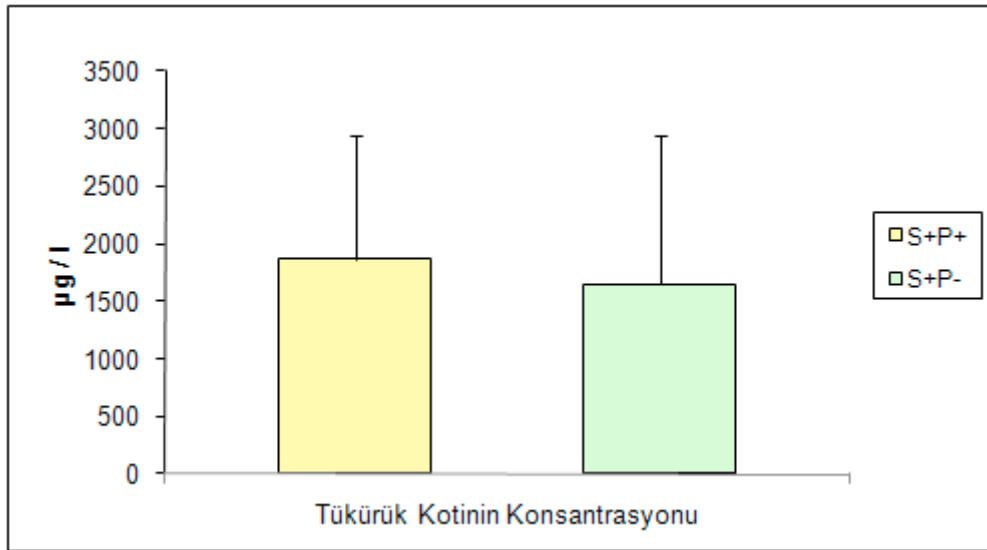
- * S-P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).
- † S-P+ grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).
- ‡ S+P- grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$).

Tablo 4.6. Sigara kullanan kronik periodontitisli (S+P+) grup ile sigara kullanan periodontal sağlıklı (S+P-) grubun tükürük kotinin konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

Laboratuvar Parametresi	Gruplar	N	X±Standart sapma	Ortanca	Ki-Kare	p
Tükürük Kotinin ($\mu\text{g/l}$)	S+P+	38	1867,83±1066,54	2177,5	502	0,245
	S+P-	28	1645,53±1294,73	1232		

Mann Whitney U testi:

Tükürük kotinin konsantrasyonu açısından S+P+ grubu ile S+P- grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).



Şekil 4.7. Tükürük kotinin konsantrasyonlarının S+P+ ve S+P- grupları arasında karşılaştırılması.

Tükürük kotinin konsantrasyonu açısından S+P+ ve S+P- grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

4.4. Korelasyonlar

Klinik parametreler ve serum ve tükürük TAOK, TOD ve MDA düzeyleri ve OSİ arasındaki korelasyonlar tüm gruplar bir arada ve tüm gruplar ayrı değerlendirilerek belirlendi. Klinik parametreler ve tüm oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyonlar tablo 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. Sonuç olarak, tüm gruplarda, klinik parametreler ve oksidatif stres parametreleri arasında önemli pozitif ve negatif korelasyonlar tespit edildi.

4.4.1. Tüm bireyler için klinik parametreler ile laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

Tüm klinik periodontal parametreler ile serum OSİ, tükürük MDA ve tükürük kotinin düzeyleri arasında pozitif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görülürken, CD, KAD, Kİ ve Pİ ile serum TAOK ve tükürük TAOK düzeyleri arasında ve GI ile serum TAOK düzeyleri arasında negatif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0,05$). CD, Gİ ve Pİ ile tükürük TOD düzeyleri arasında ve Pİ ile serum TOD düzeyleri arasında pozitif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0,05$). (Tablo 4.7)

4.4.2. Tüm bireyler için laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

Serum TAOK ile tükürük TAOK arasında; serum TOD ile tükürük TOD, tükürük MDA ve serum OSİ arasında; serum MDA ile tükürük MDA ve tükürük kotinin arasında; serum OSİ ile tükürük TOD, tükürük MDA, tükürük OSİ ve tükürük kotinin arasında; tükürük TOD ile tükürük OSİ arasında; tükürük MDA ile tükürük OSİ ve tükürük kotinin arasında ve tükürük OSİ ile tükürük kotinin arasında pozitif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görülürken, serum TAOK ile tükürük OSİ, tükürük kotinin, serum OSİ ve tükürük MDA arasında; serum OSİ ile tükürük TAOK arasında ve tükürük TAOK ile tükürük MDA, tükürük OSİ ve tükürük kotinin arasında negatif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0,05$). (Tablo 4.8)

Tablo 4.7. Tüm bireyler için klinik parametreler ile serum ve tükürük TAOK, TOD, MDA, OSİ ve tükürük kotinin değerleri arasındaki korelasyonlar

	<i>r</i>	<i>p</i>		<i>r</i>	<i>p</i>
CD-serum TAOK	-0,285	0,001	Gİ-tükürük MDA	0,217	0,003
CD-serum OSİ	0,246	0,003	Gİ-tükürük kotinin	0,334	0,001
CD-tükürük TAOK	-0,183	0,030	Kİ-serum TAOK	-0,311	0,000
CD-tükürük TOD	0,185	0,029	Kİ-serum OSİ	0,260	0,002
CD-tükürük MDA	0,262	0,002	Kİ-tükürük TAOK	-0,167	0,049
CD-tükürük kotinin	0,371	0,000	Kİ-tükürük MDA	0,277	0,001
KAD-serum TAOK	-0,256	0,002	Ki-tükürük kotinin	0,374	0,000
KAD-serum OSİ	0,225	0,007	Pİ-serum TAOK	-0,299	0,000
KAD-tükürük TAOK	-0,177	0,036	Pİ-serum TOD	0,198	0,019
KAD-tükürük MDA	0,250	0,003	Pİ-serum OSİ	0,275	0,001
KAD-tükürük kotinin	0,366	0,000	Pİ-tükürük TAOK	-0,206	0,015
Gİ-serum TAOK	-0,255	0,002	Pİ-tükürük TOD	0,195	0,021
Gİ-serum OSİ	0,193	0,022	Pİ-tükürük MDA	0,273	0,001
Gİ-tükürük TOD	0,190	0,025	Pİ-tükürük kotinin	0,386	0,000

CD, cep derinliği; KAD, klinik ataçman düzeyi; GI, gingival indeks; Kİ, kanama indeksi; Pİ, plak indeksi; TAOK, total antioksidan kapasite; TOD, total oksidatif durum; MDA, malondialdehit; OSİ, oksidatif stres indeksi; r, Pearson korelasyon katsayısı

Tablo 4.8. Tüm bireyler için serum ve tükürük TAOK, TOD, MDA, OSİ ve tükürük kotinin değerleri arasındaki korelasyonlar

	<i>r</i>	<i>p</i>		<i>r</i>	<i>p</i>
serum TAOK- tükürük TAOK	0,436	0,000	serum OSİ- tükürük TOD	0,259	0,002
serum TAOK- tükürük OSİ	-0,303	0,000	serum OSİ- tükürük MDA	0,300	0,000
serum TAOK- tükürük kotinin	-0,472	0,000	serum OSİ- tükürük OSI	0,456	0,000
serum TAOK- serum OSİ	-0,712	0,000	serum OSİ- tükürük kotinin	0,355	0,000
serum TAOK- tükürük MDA	-0,330	0,000	tükürük TAOK- tükürük MDA	-0,260	0,002
serum TOD- tükürük TOD	0,308	0,000	tükürük TAOK- tükürük OSİ	-0,439	0,000
serum TOD- tükürük MDA	0,192	0,023	tükürük TAOK- tükürük kotinin	-0,336	0,001
serum TOD- serum OSİ	0,611	0,000	tükürük TOD- tükürük OSİ	0,169	0,046
serum MDA- tükürük MDA	0,202	0,017	tükürük MDA- tükürük OSİ	0,175	0,039
serum MDA- tükürük kotinin	0,233	0,020	tükürük MDA- tükürük kotinin	0,400	0,000
serum OSİ- tükürük TAOK	-0,298	0,000	tükürük OSİ- tükürük kotinin	0,208	0,038

TAOK, total antioksidan kapasite; TOD, total oksidatif durum; MDA, malondialdehit; OSİ, oksidatif stres indeksi; *r*, Pearson korelasyon katsayısı

4.4.3. S+P+ grubu için klinik parametreler ile laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

CD ile tükürük TAOK ve TOD arasında pozitif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görülürken, GI ve PI ile serum MDA düzeyi arasında negatif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0,05$). Serum TOD ile serum OSİ arasında, serum MDA ile tükürük MDA arasında ve serum OSİ ile tükürük OSİ arasında pozitif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görülürken, serum TAOK ile serum ve tükürük OSİ arasında ve tükürük TAOK ile tükürük OSİ arasında negatif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0,05$). (Tablo 4.9)

Tablo 4.9. S+P+ grubu için klinik parametreler ve laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

	r	p		r	p
CD-tükürük TAOK	0,319	0,045	serum TAOK-tükürük OSİ	-0,372	0,018
CD-tükürük TOD	0,372	0,018	serum TAOK- serum OSİ	-0,752	0,000
Gİ-serum MDA	-0,427	0,006	serum TOD- serum OSİ	0,478	0,002
Pİ-serum MDA	-0,502	0,001	serum MDA-tükürük MDA	0,367	0,020
			serum OSİ- tükürük OSİ	0,561	0,000
			tükürük TAOK- tükürük OSİ	-0,419	0,007

TAOK, total antioksidan kapasite; TOD, total oksidatif durum; MDA, malondialdehit; OSİ, oksidatif stres indeksi; r, Pearson korelasyon katsayısı

4.4.4. S-P+ grubu için klinik parametreler ile laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

Serum TAOK ile tükürük TAOK arasında, serum TOD ile serum MDA ve OSİ arasında ve serum MDA ile serum OSİ arasında pozitif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görülürken, serum TAOK ve serum OSİ arasında, serum MDA ile tükürük TAOK arasında, tükürük TAOK ile tükürük OSİ arasında ve tükürük TOD ile tükürük MDA arasında ve negatif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görüldü ($p < 0,05$). (Tablo 4.10)

Tablo 4.10. S-P+ grubu için klinik parametreler ve laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

	r	p		r	p
serum TAOK- serum OSİ	-0,741	0,000	serum MDA- serum OSİ	0,375	0,017
serum TAOK- tükürük TAOK	0,434	0,005	serum MDA- tükürük TAOK	-0,329	0,038
serum TOD- serum MDA	0,358	0,023	tükürük TAOK- tükürük OSİ	-0,552	0,000
serum TOD- serum OSİ	0,758	0,000	tükürük TOD-tükürük MDA	-0,343	0,030

TAOK, total antioksidan kapasite; TOD, total oksidatif durum; MDA, malondialdehit; OSİ, oksidatif stres indeksi; r, Pearson korelasyon katsayısı

4.4.5. S+P- grubu için klinik parametreler ile laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

Serum TOD ile serum OSİ arasında ve tükürük MDA ile tükürük OSİ arasında pozitif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görülürken, serum MDA ile tükürük TOD arasında ve tükürük TAOK ile tükürük OSİ arasında negatif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0,05$). (Tablo 4.11)

Tablo 4.11. S+P- grubu için klinik parametreler ve laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

	r	p		r	p
serum TOD- serum OSİ	0,899	0,000	tükürük TAOK- tükürük OSİ	-0,678	0,000
serum MDA- tükürük TOD	-0,531	0,003	tükürük MDA-tükürük OSİ	0,399	0,029

TAOK, total antioksidan kapasite; TOD, total oksidatif durum; MDA, malondialdehit; OSİ, oksidatif stres indeksi; r, Pearson korelasyon katsayısı

4.4.6. S-P- grubu için klinik parametreler ile laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

Serum TOD ile serum OSİ arasında ve tükürük TOD ile tükürük OSİ arasında ve pozitif yönlü zayıf ve anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0,05$). (Tablo 4.12)

Tablo 4.12. S-P- grubu için klinik parametreler ve laboratuvar parametrelerinin korelasyonları

	r	p		r	p
serum TOD- serum OSİ	0,931	0,000	tükürük TOD- tükürük OSİ	0,86	0,000

TAOK, total antioksidan kapasite; TOD, total oksidatif durum; MDA, malondialdehit; OSİ, oksidatif stres indeksi; r, Pearson korelasyon katsayısı

5. TARTIŞMA

Periodontitis, subgingival bakterilere karşı gelişen kronik iltihabi yanıt sonucunda oluşur ve destek periodontal dokulardaki yıkımın şiddeti ile ilişkili diş kaybı meydana gelebilir. Yetişkin popülasyonun %7-15'ini etkileyen periodontitis, patojenik bakteri varlığının gerekli ancak yeterli olmadığı multifaktöriyel bir hastalıktır. Konağın immün-inflamatuar yanıtı çeşitli davranışsal, çevresel ve genetik faktörlerden etkilenir ve periodontitise yakınlıkta kritik öneme sahiptir (216). Bakteriyel stimülasyona karşı nötrofillerin gingival bölgeye toplanması, proteolitik enzimlerin ve ROT'un salınması, konak yanıtının iki esas komponentidir (260). PMNL'ler, periodontitisli bireylerde fonksiyonel olarak aktif hale gelirler ve artmış ROT üretimi sergilerler (189). ROT üretimi primer olarak bakterilerin öldürülmesine yöneliktir, ancak ROT'un ekstraselüler yayılımı çevre dokuların yıkımıyla sonuçlanır (81). ROT'un periodontal hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynadığı güncel çalışmalar ile kanıtlanmış olmasına karşın, periodontal hastalıkların ilerlemesini hangi derecede etkilediği halen bilinmemektedir (189).

Sigaranın, bakteriyel plaktan sonra periodontal hastalık için en kuvvetli modifiye edilebilir risk faktörü olduğu çok sayıda çalışmada ortaya konmuş ve periodontal hastalık patogeneindeki rolü değişik açılardan incelenmiştir (1). NHANES III'ün verilerine göre, periodontitis vakalarının yaklaşık %40'ının aktif sigara kullanımı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (11). Sigara kullanan hastalarda periodontitis riskinin artmış olması, sigaranın immün sistem üzerindeki etkisiyle ilişkilidir. Sigara, PMNL'lerin bölgeye toplanmasını ve hastalık patogeneğinde önemli rol oynadıkları düşünülen inflamatuvar mediyatörlerin ve sitokinlerin salınımını ve buna bağlı olarak bakterilere karşı gelişen konak yanıtını arttırmaktadır (1). İnflamatuvar mediyatörlerin artan düzeyinin periodontal doku yıkımıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Çok sayıda çalışmada, sigaranın ve komponentlerinin, hücre ve dokulardaki sitokin üretimine etkileri araştırılmıştır (205, 236). Bizim çalışmamızda da bu çalışmaların devamı niteliğinde, önemli bir ROT kaynağı olduğu bilinen sigaranın

kronik periodontitisin patogenezindeki rolü oksidatif stres açısından değerlendirilmiş ve sigara ve periodontal hastalığın çeşitli oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Çalışmamızın bulguları, sigara kullanımı ve kronik periodontitis tablosunda, serum ve tükürükteki TAOK'un azaldığını, TOD ve MDA düzeylerinin ve OSI'nin arttığını göstermiştir. Literatürde, sigara kullanan/kullanmayan periodontitisli bireylerdeki oksidatif ve antioksidatif durumu inceleyen sınırlı sayıda araştırma bulunmakla birlikte, bizim bilgilerimiz dahilinde çalışmamız, periodontal hastalık ve sağlık durumlarında sigaranın önemli oksidatif stres parametreleri olarak kabul edilen TAOK, TOD ve MDA'ya etkisinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Aynı zamanda, OSI sigara ve/veya periodontitis ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi vurgulamak açısından bu çalışmada ilk defa kullanılmıştır.

Çalışmamızda sigara ve periodontitis tablosundan oksidatif stres parametrelerinin sistemik olarak ne şekilde etkilendiği, serum örnekleri ile belirlenirken, lokal etkilenim için total stimule edilmemiş tükürük örnekleri toplanarak analiz edilmiştir. Tükürüğün stimülasyonun, çiğneme sırasında periodontal cepten DOS akışını artırdığı bilinmektedir. Bu durum, tükürükteki antioksidanların ve plazma ile ilişkili elementlerin miktarını da arttırabilmektedir (3). Periodontitisli bireylerde de tükürük akış hızının tükürük biyomarkır konsantrasyonlarını belirgin derecede etkilediği rapor edilmiştir (63). Bununla birlikte, stimule edilmemiş tükürük, major intraoral durumu yansıtır ve analiz için daha doğru kompozisyon sağlar (13, 51, 202).

Bu çalışmada, sigara içen kronik periodontitisli bireylerdeki sistemik ve lokal antioksidan durumu ve single antioksidanların bu tabloda nasıl etkilendiğini belirlemek amacıyla TAOK değerlendirilmiştir. TAOK; incelenen biyolojik örneklerdeki antioksidanların tümünün antioksidan kapasitelerinin toplamı sonucunda elde edilen biyokimyasal bir parametredir ve TAOK'un ölçülmesinin güvenilir bir yöntem olduğu ve henüz keşfedilmemiş antioksidan türlerinin etkilerini de yansıttığı düşünülmektedir (14). TAOK, total protein (%85; başlıca albumin), ürik asit, bilirubin, karotenoidler, tokoferol ve askorbik asit antioksidan kapasitelerinin toplamı sonucu meydana gelmektedir (123). Bununla birlikte, TAOK ölçümü yalnızca hastalık fazına dayanan güncel antioksidan mekanizmaların kapasitesini yansıtmaktadır (64).

Çalışmamızda, sigara kullanan periodontitisli bireylerdeki sistemik ve lokal TAOK değerlerinin, sigara kullanan veya kullanmayan periodontal olarak sağlıklı bireyler ve sadece periodontitisli bireyler ile karşılaştırıldığında önemli derecede azaldığı gözlenmiştir.

Sistemik TAOK düzeyleri, sigara içen kronik periodontitisli bireylerde diğer tüm gruplara göre önemli derecede azalırken, bu değerlerin sadece sigara (S+P-) ve sadece periodontitis (S-P+) gruplarında da kontrollere göre önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, lokal TAOK değerleri sigara içen kronik periodontitisli bireylerde diğer gruplara göre önemli derecede azalırken, sadece sigara ve periodontitis grupları ve kontroller arasında istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte bazı farklar olduğu gözlemlendi. Bu üç grup arasında en düşük TAOK değerleri (S+P-) grubunda iken, en yüksek TAOK değerleri kontrollerde idi.

Bulgularımız, sigara ve/veya periodontitise bağlı TAOK'da sistemik ve lokal yönden bir azalma meydana geldiğini, sigara ve periodontitisin birlikte bulunduğu tablolarda TAOK'un bu durumdan sadece sigara ve periodontitise göre daha fazla etkilendiğini göstermektedir. Aynı zamanda, sistemik olarak sadece sigara ve sadece periodontitis grupları kontrollere göre önemli derecede azalırken, bu gruplardaki lokal TAOK değerlerinin kontrollere göre istatistiksel olarak farklı olmaması, sigara ve periodontitisin tek başına sistemik antioksidan savunmada lokale göre daha fazla olumsuz yönde etkilendiğini ortaya koymaktadır.

Özetle, en yüksek serum ve tükürük TAOK değerleri kontrollerde gözlenirken, en düşük değerlerin sigara içen kronik periodontitisli bireylerde gözlenmesi, sistemik ve lokal TAOK düzeyinin sigara ve periodontitisin birlikte bulunduğu tablodan daha olumsuz yönde etkilendiğini göstermektedir. Aynı zamanda sigaranın ve periodontitisin tek başlarına sistemik ve lokal TAOK üzerindeki etkisini değerlendirdiğimizde, sigaranın TAOK üzerinde en az periodontitis kadar olumsuz etkiye sahip olduğunu ve TAOK düzeyini azaltabildiğini gözlemlemekteyiz.

Çalışmamızda aynı zamanda, tüm bireyler bir arada değerlendirildiğinde, tüm klinik periodontal parametreler ve serum ve tükürük TAOK düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli, negatif yönde zayıf korelasyonlar gözlenmiştir. Özellikle CD, KAD ve Gİ ile serum ve tükürük TAOK düzeyi arasındaki negatif korelasyonlar, periodontal yıkımın TAOK düzeyi ile yakın ilişkide olduğunu göstermektedir.

Sigaranın periodontal dokulardaki etkisini oksidatif stres açısından inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre; Guentsch ve ark. (81) sigara kullanan periodontitisli bireylerde daha düşük TAOK bulunduğunu ileri sürerken, Buduneli ve ark. (8) gingivitisli bireylerde, dişeti inflamasyonunun ve/veya sigara kullanımının, tükürük TAOK'unu değiştirmedini rapor etmişlerdir. Tonguç ve ark. (2) sigara kullanan periodontitisli bireylerde sigara kullanmayan veya sigara kullanmayı bırakmış olan periodontitisli bireyler ile karşılaştırıldığında, SOD ve KAT enzim aktivitelerinin kan ve dişeti örneklerinde, GPx enzim aktivitesinin ise sadece dişeti örneklerinde arttığını bildirmişlerdir.

Günümüzde, sigaradan bağımsız olarak, periodontal hastalık ve antioksidan savunma mekanizması arasındaki ilişki inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır (5, 14, 63, 64, 202, 220, 261). Bu araştırmalara göre, sadece kronik periodontitis tablosunun bulunduğu bireylerde, serum, plazma, tükürük ve DOS TAOK düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla önemli derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Baltacıoğlu ve ark. (5) pre ve post menopozal periodontitis hastalarının serum ve DOS TAOK'larını novel automated yöntem ile incelediklerinde, periodontitis hastalarında serum ve DOS TAOK'larının belirgin olarak azaldığını göstermişlerdir. Brock ve ark. (63) periodontitisli bireylerde serum ve tükürük TAOK konsantrasyonlarının sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında bir miktar azaldığını, DOS ve plazma antioksidan konsantrasyonlarının ise belirgin derecede azaldığını rapor etmişlerdir. Sculley ve ark. (202) tükürük TAOK'unun periodontal hastalık şiddetiyle ters orantılı olduğunu bildirmişlerdir. Abou Sulaiman ve ark. (220) kronik periodontitisli bireylerde sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında plazma TAOK'unun belirgin derecede düşük olduğunu ve cerrahi olmayan periodontal tedaviden bir ay sonra önemli derece arttığını rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada, plazma TAOK konsantrasyonu ile klinik periodontal parametreler arasında önemli bir korelasyon gözlenemediği bildirilmiştir. Konopka ve ark. (64) kronik periodontitisli bireylerin periferik ve gingival kan örneklerinde, TAOK'un belirgin derecede düştüğünü rapor etmişlerdir. Periodontitisli bireylerdeki TAOK ile ilgili elde edilen verilere zıt olarak, Su ve ark. (54) periodontitisli hastaların tükürüğünde TAOK'un yükseldiğini ve bunun artan oksidatif strese karşı adaptif bir yanıt olabileceğini bildirmişlerdir.

Literatürde, periodontal hastalık ve TAOK ilişkisini inceleyen çalışmaların yanı sıra, çok sayıda çalışmada enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan düzeyleri ile periodontitis arasındaki ilişki araştırılmıştır (5, 16, 164, 215, 217, 262). Ellis ve ark. (262) in vitro şartlarda, dişeti SOD düzeyi ile periodontal cep derinliği arasında negatif korelasyon olduğunu ileri sürerken, Baltacıoğlu ve ark. (5) periodontitisli bireylerin serum ve DOS'unda SOD enzim düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir. Sobaniec ve Sobaniec-Lotowska (217), ligatür ile indüklenen periodontitisli hayvan modellerinde, serum antioksidan enzim düzeylerinin düştüğünü göstermişlerdir. Diğer çalışmalarda, Marton ve ark. (215) kronik apikal periodontitisli dokuların SOD enzim düzeyinin sağlıklı dokulardan farklı olmadığını, Panjamurthy ve ark. (16) periodontitisli bireylerin plazma vitamin C, vitamin E ve GSH düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla düşük, antioksidan enzim düzeylerinin ise yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Panjamurthy ve ark. aynı zamanda enzim seviyelerindeki bu artışın oksidatif strese karşı koruyucu bir yanıt olabileceğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Patel ve ark. (164) DOS eGPx düzeylerinin periodontal hastalık şiddetiyle doğru orantılı olarak arttığını belirtmişlerdir.

Akalın ve ark. (263) çalışmalarında, periodontitisli bireylerde dişeti SOD aktivitesinin azaldığını ve dişeti SOD aktivitesi ile periodontal durum arasında istatistiksel olarak önemli negatif korelasyonlar olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, diabetes mellituslu bireylerin dişeti SOD aktivitesinde gözlenen artış, dişetinde gelişen koruyucu ve adaptif mekanizmaların sonucu olabileceği gibi, diabetes mellitusta artan süperoksit üretiminin bir sonucu da olabilir.

Çanakçı ve ark. (65) periodontal hastalıklı preeklempatik gebelerin, tükürük, DOS ve serum TAOK'larının, DOS ve serum SOD ve GPx aktivitelerinin belirgin derecede düştüğünü rapor etmişlerdir.

Periodontitiste ve sigarada antioksidan savunma mekanizmasının özellikle de antioksidan enzimlerin azalmasının ve/veya artmasının, antioksidan sistemin dinamik bir seyir göstermesi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Serum ve plazmadaki oksidatif patlamanın ilk aşamasında, antioksidan konsantrasyonunda adaptif bir artış gözlenirken, devam eden ROT üretimi antioksidan savunma sistemlerini tüketir ve TAOK'ta azalma meydana gelebilir (64).

Çalışmamızda novel automated TAOK analizi kullanılmıştır. Chapple ve ark. (14) DOS ve plazma TAOK'unu electrochemiluminescence ile analiz ettikleri çalışmalarında, DOS TAOK'unun periodontitis hastalarında kontrol grubuna kıyasla oldukça düşük olduğunu ancak plazma seviyelerinin farklı olmadığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Pavlica ve ark. (261) periodontitiste serum TAOK'unun düştüğünü ve TAOK ile periodontal parametreler arasında negatif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda periodontitisli bireylerin serum TAOK'unun sağlıklı bireylere göre düşük oluşu ve serum TAOK ile tüm klinik periodontal parametreler arasında görülen negatif korelasyonlar bu bulguları desteklemektedir. Ancak, serum ve plazmadaki TAOK regülasyonunda çeşitli faktörler etkilidir. Serumun, ROT inaktivasyon kapasitesindeki farklılıkların yorumu metodolojiye dayanır. Farklı yöntemlerle ölçülen TAOK'lar arasında önemli bir korelasyon yoktur. Araştırma öncesinde serumun saklanma koşulları, diyet, fiziksel aktivite, sigara alışkanlığı, lipid tipi, proteinler ve nükleik asit peroksidasyonu gibi faktörler oldukça önemlidir (64).

Araştırmamızın sigara ve/veya periodontitisin TAOK üzerindeki etkisini gösteren bulguları, tüm bu çalışma sonuçları ile uyumlu gibi görünmektedir. Sonuç olarak, sigara ve periodontitis TAOK'u azalttığı gibi, ayrıca sadece sigara ve periodontitiste de TAOK azalmakta ve sigara TAOK üzerinde en az periodontitis kadar olumsuz etki göstermektedir. Bununla birlikte sigaranın sistemik ve lokal TAOK üzerinde periodontitise göre göreceli olarak daha belirgin bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Sigara ve TAOK arasındaki ilişkiyi araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmakla birlikte (8, 81, 132), sigara ve çeşitli antioksidanlar arasındaki ilişki inceleyen araştırmalar bulunmaktadır (72, 264-268). Bu çalışmaları incelediğimizde, kronik sigara kullanan bireylerin serumunda, askorbik asit, E vitamini, β -karoten ve selenyum konsantrasyonlarının azaldığı gösterilmiştir (264, 265). Benzer şekilde, sigara kullanan bireylerin plazmalarındaki α -tokoferol seviyesinin belirgin derecede azaldığı rapor edilmiştir (72). Pryor ve ark. (266) sigara kullanan bireylerde serum vitamin C ve β -karoten düzeylerinin sigara kullanmayan bireylere kıyasla düşük olduğunu bildirmişlerdir. Lykkesfeldt ve ark. (267) ise, plazma total askorbik asit konsantrasyonunun sigara kullanan bireylerde kullanmayanlara kıyasla düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Güncel bir çalışmada, Ulvik ve ark. (268) sigara kullanımının dolaşımdaki folik asit ve riboflavin gibi B vitaminlerinin konsantrasyonlarını düşürdüğünü, sigara kullanımının bırakılmasından birkaç gün sonra ise vitamin konsantrasyonlarının belirgin derecede arttığını

belirtmişlerdir. Ayçiçek ve ark. (132) aktif veya pasif sigara kullanan gebelerin, plasenta dokularında ve serum örneklerinde TAOK düzeylerinin sigara kullanmayan gebelere kıyasla belirgin derecede düşük olduğunu rapor etmişlerdir.

Her ne kadar biz, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları bir arada değerlendiren TAOK kapasiteyi incelemek bile, bizim çalışmamızda, sigara kullanan periodontitisli bireylerdeki sistemik ve lokal TAOK değerlerinin, sigara kullanan veya kullanmayan periodontal olarak sağlıklı bireyler ve sadece periodontitisli bireyler ile karşılaştırıldığında önemli derecede azaldığının gözlenmesi, literatürdeki bu bilgileri destekler görünümündedir.

Ancak diğer bazı araştırmaların sonuçları, sigaranın enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan seviyeleri açısından farklı sonuçlara sahip olduğunu göstermektedir. Sigara kullanan bireylerin dolaşımdaki eritrositlerinde sigara kullanmayan bireylerdekine kıyasla SOD ve KAT düzeyi daha yüksek, GPx aktivitesi ise benzer düzeyde bulunmuştur ve endotel hücreleri H_2O_2 'nin etkilerine karşı korumada daha etkili oldukları bildirilmiştir (269). Benzer şekilde Tonguç ve ark. (2) SOD, GPx ve KAT gibi antioksidan enzim aktivitelerinin, periodontitisli bireylerde sağlıklı kontrollere göre belirgin derecede düştüğünü ancak sigara kullanan periodontitisli bireylerde kullanmayanlara kıyasla bir miktar yükseldiğini bildirmişlerdir. Periodontal dokular sigara dumanına direkt ekspoz olduğundan, sigara kullanan bireylerin periodontal dokularında süperoksit artışı beklenen bir sonuçtur. Süperoksitin hidrojen peroksit dismutasyonu spontan veya SOD enzimi aracılığıyla gerçekleşir ve böylelikle süperoksit dokulardan uzaklaştırılır. Oluşan hidrojen peroksit ise, intraselüler ortamda KAT, ekstraselüler ortamda ise GPx tarafından uzaklaştırılır. Bu nedenle sigara kullanan bireylerde belirli antioksidan enzim aktivitelerinde artış görülebilmektedir. Ancak bu artış periodontal dokuları sigaranın zararlı etkilerine karşı korumada yeterli değildir. Bu sonuçlar, periodontal dokularda gelişen koruyucu ve adaptif mekanizmalardan kaynaklanmaktadır.

Oral dokular, sigara dumanındaki gaz ve partikül ürünlerin ilk hedefidir. Birkaç sigara bile tükürük, plazma ve idrardaki tütün metabolitlerinin konsantrasyonlarını arttırabilir ve çeşitli biyokimyasal ve biyolojik fonksiyonları modifiye edebilir. Çalışmamıza katılan bireylerin, örneklemelerin elde edildiği günün sabahında aç karnına olmalarına ve sigara kullanmamalarına özen gösterilmiştir. Zappacosta ve ark. (270) sigara kullanan ve

kullanmayan bireylerin tükürüklerinde, ürik asit ve total radikal yakalayıcı antioksidan konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ancak glutatyon konsantrasyonunun sigara kullanan bireylerde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, sadece bir sigara kullanımının bile tükürük glutatyon konsantrasyonunda ani ve belirgin bir düşüşe neden olduğu, ancak 1-2 saat sonra glutatyon konsantrasyonunun sigara içilmeden önceki değerlere geri döndüğü gösterilmiştir.

Günümüzde farklı oksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçümü pratik değildir ve oksidan moleküllerin birbirleriyle etkileşimini tam olarak yansıtamayabilir. Bu nedenle, TOD tayininin, diğer yöntemlere göre daha üstün bir yöntem olduğu düşünülmektedir (131). Literatürde, periodontitisli bireylerdeki TOD düzeyleri ile ilgili sadece iki çalışma bulunmaktadır (3, 61). Bu çalışmalarda, kronik periodontitisli bireylerde, serum, tükürük ve DOS TOD düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre belirgin derecede yüksek olduğu ve kronik periodontitisli bireylerde TOD'un sistemik ve lokal olarak arttığı ifade edilmiştir. Akalın ve ark. (3) sağlıklı kontrollere kıyasla kronik periodontitisli bireylerin serum, tükürük ve DOS TOD düzeylerinin belirgin derecede yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Wei ve ark. (61) kronik periodontitisli bireylerin serum, tükürük ve DOS TOD düzeylerinin önemli derecede yüksek olduğunu ve cerrahi olmayan periodontal tedaviden 4 ay sonra azaldığını bildirmişlerdir. Wei' e göre, cerrahi olmayan periodontal tedavi, lokal ve sistemik MDA, TOD ve SOD düzeylerini modifiye ederek bireyin antioksidan kapasitesini restore ve kontrol edebilir.

Biz de çalışmamızda, serum ve tükürükteki TOD'un sigara ve/veya periodontitis tablosunda, kontrollerle karşılaştırıldığında önemli derecede arttığını ve en yüksek TOD düzeyinin sigara içen periodontitis grubunda olduğunu, kontroller dışında diğer üç grup arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını gözlemledik. Serum ve tükürük TOD düzeylerinde en yüksek değerler sigara içen periodontitisli bireylerde gözlenirken, en düşük değerler kontrol grubunda gözlemlendi. Çalışmamızda (S+P-) ve (S-P+) grupları, (S+P+) grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir fark göstermemekle birlikte, TOD'un sigara ve periodontitis tablosunda diğer gruplara göre sistemik ve lokal olarak arttığı, aynı zamanda sigaranın yine istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte periodontitise göre daha yüksek oranda TOD içerdiği gözlenmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuçlara göre, sigara ve/veya periodontitis oksidan durumu arttırırken, sigaranın periodontitis üzerinde istatistiksel olarak önemli olmamakla

birlikte, ilave bir etkiye sahip olduğunu düşünebiliriz. Tüm bireyler bir arada değerlendirildiğinde, klinik parametreler ve serum ve tükürük TOD düzeyleri arasında korelasyonlar incelendiğinde, CD, Gİ ve Pİ arasında istatistiksel olarak önemli, pozitif yönde zayıf korelasyonlar gözlenmiştir. TAOK 'a göre daha zayıf olduğu gözlenen bu korelasyonlar, bu çalışmada TOD'a bağlı periodontal yıkımın klinik parametreler ile yakın ilişkide olabileceği fikrini tam anlamıyla destekler nitelikte görünmemektedir. Ayrıca, serum TOD ve serum MDA arasında istatistiksel olarak anlamlı ancak pozitif yöndeki zayıf korelasyon, oksidanların ve ROT'un lipid peroksidasyonu ile ilişkisini ortaya koymaktadır.

Akalın ve ark. (3) periodontal klinik parametreler ile tükürük ve DOS TOD düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı, kuvvetli ve pozitif ilişkiler olduğunu, klinik parametreler ile serum TOD düzeyi arasında ise istatistiksel olarak anlamlı ancak zayıf pozitif korelasyonlar olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada; serum, tükürük ve DOS MDA ve TOD düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı orta düzeyli veya kuvvetli pozitif korelasyonlar olduğu gösterilmiştir.

Wei ve ark. (61) klinik parametreler ile serum, tükürük ve DOS TOD düzeyleri arasında pozitif yönde zayıf korelasyonlar olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, periodontal cepteki TOD düzeyleri ve LPO arasında yakın ilişki olduğu görüşü desteklenmiştir.

Ayçiçek ve ark. (132) aktif veya pasif sigara kullanan gebelerin, plasenta dokularında ve serum örneklerinde TOD düzeylerinin sigara kullanmayan gebelere kıyasla belirgin derecede yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada aynı zamanda, aktif maternal sigara kullanımı ile plasenta TOD ve OSI düzeyleri arasında belirgin pozitif korelasyon olduğu, kullanılan sigara sayısı ile bebeklerin doğum ağırlığı ve baş çevresi ölçümleri arasında ise belirgin negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir.

Matthews ve ark. (10) güncel çalışmalarında, yüksek dozda sigara kullanımının nötrofillerin solunum patlaması mekanizmasını stimüle ederek ROT kaynaklı doku hasarına katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırma, sigaraya bağlı oksidatif stresin nasıl bir mekanizma ile meydana geldiğini ortaya koymaktadır.

LPO, kontrol edilemeyen zincir reaksiyonları ile hücre membranlarında ve diğer hücre komponentlerinde yıkıma neden olan zararlı bir mekanizmadır. Hiperoksidasyon, hipoksi, demir intoksikasyonu ve yetersiz antioksidan savunma gibi çok sayıda faktör LPO'yu stimule edebilmektedir (123). ROT'a bağlı doku yıkımı, LPO sonuç ürünlerinin ölçümüyle kolaylıkla belirlenebilir. MDA, çok zincirli doymamış yağ asiti peroksidasyonunun başlıca ve en çok çalışılan sonuç ürünüdür (61). Bazı çalışmalar, 4-hydroxynonenal (4-HDA), akrolin ve isoprotane ölçümünün MDA'dan daha üstün olabileceğini, çünkü MDA'nın LPO sırasında oluşan çok sayıda aldehitten yalnızca biri olduğunu ve sialik asit ve deoksiriboz üzerindeki serbest radikal atağı sırasında da ortaya çıkabileceğini belirtmişlerdir (61, 72).

PMNL'lerin bakterilerle etkileşimi sırasında, bakterilerin öldürülmesi amacıyla yüksek miktarda ROT üretildiği ve ROT'un ekstraselüler yayılımının çevre dokuların yıkımına neden olduğu bilinmektedir. Önemli bir periodontal patojen olan *F. nucleatum*' un, PMNL'lerin oksidatif metabolizmasını stimule ettiği gösterilmiştir (271). Sheikhi ve ark. (218) deneysel çalışmalarında, PMNL'lerin *F. nucleatum* ile stimule edildiğinde ortama eklenen intralipidlerin yıkıma uğradığını ve MDA ve 4-HDA düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, sigara ve periodontitisin LPO üzerindeki etkisini araştırmak için MDA düzeyleri incelendi. Serum MDA düzeyleri sigara içen periodontitisli bireylerde kontrollere kıyasla artarken, kontroller dışında diğer üç grup arasında önemli bir fark oluşmadığı gözlemlendi. Araştırmamızda aynı zamanda sigara ve/veya periodontisteki tükürük MDA düzeylerinin serum MDA'ya göre daha belirgin oranlarda arttığı da gözlemlendi. Tükürük MDA bulgularımızı inceleyecek olursak; sigara ve periodontitis grubunda diğer üç gruba göre tükürük MDA düzeyinin arttığı ve sigara kullanan sistemik olarak sağlıklı bireylerdeki MDA düzeyinin sigara kullanmayan periodontitisli bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha yüksek olduğu saptandı. Çalışmamızda, sistemik LPO'nun (S+P+) grubunda kontrollere göre istatistiksel olarak yüksek olmasına karşın, (S+P-) ve (S-P+) gruplarında kontrollere göre önemli derecede fark göstermemesi, sistemik LPO'nun sigara ve periodontitisin birlikte bulunduğu tablodan daha olumsuz yönde etkilendiğini göstermektedir. Ancak lokal LPO'nun sadece (S+P+) grubunda değil aynı zamanda (S+P-) ve (S-P+) gruplarında da kontrollere göre önemli derecede yüksek olması lokal LPO'nun sigara ve periodontitisin birlikte bulunduğu tablodan etkilendiği gibi, sadece sigara ve sadece periodontitis tablosundan da olumsuz yönde etkilendiğini göstermektedir. Sigara kullanımı

durumunda LPO'nun periodontitise göre istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte artması ve sigara kullanan periodontitisli bireylerde en yüksek LPO düzeyinin gözlenmesi, sigaranın LPO üzerinde tek başına yada periodontitis üzerinde ilave bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda, tüm bireyler bir arada değerlendirildiğinde, tüm klinik periodontal parametreler ve tükürük MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli, pozitif yönde zayıf korelasyonlar gözlenirken, klinik parametreler ve serum MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli herhangi bir korelasyon gözlenmemiştir. Serum MDA düzeylerini gruplar arası incelediğimizde, sigara içen kronik periodontitisli bireyler ve kontroller arasındaki fark dışında, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmaması, klinik parametreler ve serum MDA düzeyi arasında herhangi bir ilişki bulunmaması sonucu ile paralellik göstermektedir. Ayrıca yine bizim bulgularımıza göre, tükürük MDA düzeyleri CD, KAD, Gİ, Kİ, ve Pİ ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler göstermektedir. Periodontitisli bireylerin tükürüğünde seruma göre daha belirgin düzeyde görülen MDA artışı, kısmen bakteri ve ürünlerine karşı tükürükte görülen LPO artışına kısmen de serum ve DOS'tan tükürüğe sızan ROT miktarındaki artışa bağlı olabilir.

Tüm bulgularımızı bir arada değerlendirdiğimizde, lokal LPO'nun klinik periodontal parametreler ile yakın ilişkide olduğunu ve lokal LPO'nun sistemik LPO'ya göre sigara ve/veya periodontitis tablosundan daha fazla etkilenmesinde bu durumun rol oynayabileceğini söyleyebiliriz.

Periodontitisli bireylerdeki serum, tükürük, DOS ve dişeti dokularında MDA düzeylerini inceleyen çalışmalara baktığımızda (2, 3, 13, 16, 50, 54, 65, 215-217, 219) çalışmaların sonuçları bazı farklılıklar göstermekle birlikte, genel olarak DOS ve tükürük MDA düzeylerinin kontrollere kıyasla önemli derecede yüksek olduğu, sistemik MDA düzeyinin değişmediği ve sigarada MDA düzeyinin arttığı rapor edilmiştir.

Akalın ve ark. (3) kronik periodontitisli bireylerde sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında tükürük ve DOS MDA düzeylerinin arttığını, serum MDA düzeylerinin ise değişmediğini bildirmişlerdir. Tsai ve ark. (13) 4-HDA(4-hidroksialkenal) ve MDA düzeylerini ölçtükleri çalışmalarında, kronik periodontitisli bireylerin tükürük ve DOS'unda LPO'nun belirgin

derecede arttığını ve faz 1 periodontal tedavi sonrasında azaldığını rapor etmişlerdir. Panjamurthy ve ark. (16) periodontitisli bireylerin plazma, eritrosit, eritrosit membranları ve dişeti dokularında, Mashayekhi ve ark. (216) ise periodontitisli bireylerin tükürüklerinde TBARS düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla arttığını ifade etmişlerdir. Su ve ark. (54) sigara kullanmayan periodontitisli bireylerin tükürük 8-OHdG, 8-epi-PGF2 α ve protein karbonil düzeylerini inceledikleri çalışmalarında, periodontal hastalıkta DNA, lipid ve protein oksidasyonun arttığını bildirmişlerdir.

Çanakçı ve ark. (65) periodontal hastalıklı preeklempatik gebelerin periodontal olarak sağlıklı gebelerle karşılaştırıldığında, serum ve DOS MDA düzeylerinin belirgin derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Tüter ve ark. (219) faz I periodontal tedavi sonrasında kronik periodontitisli bireylerden elde edilen dişeti örneklerinde, TBARS düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Marton ve ark. (215) sağlıklı gingival dokulara kıyasla kronik apikal periodontitisli dokuların MDA düzeyinin belirgin derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir. Sobaniec ve Sobaniec-Lotowska (217), deneysel periodontitis oluşturulan farelerin serumunda MDA düzeylerinin arttığını, Khalili ve ark. (50) periodontitisli bireylerde artan tükürük MDA düzeyinin, hastalık şiddetiyle pozitif korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir.

Literatürde sigara kullanan periodontitisli bireylerdeki LPO düzeyini değerlendiren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (2, 214). Celec ve ark. (214) periodontal durumu papiller kanama indeksi ile değerlendirdikleri çalışmalarında, tükürük MDA düzeyi ile periodontal durum arasında bir ilişki olmadığını ancak sigara kullanan bireylerin tükürüğünde MDA düzeylerinin arttığını rapor etmişlerdir. Tonguç ve ark. (2) sigara ve periodontitisin, serum ve dişeti MDA düzeylerinde artışa neden olduğunu son çalışmalarında belirtmişlerdir.

Çalışmamızda sadece sigara kullanan periodontitisli bireylerdeki LPO düzeyi değerlendirilmemiş aynı zamanda sigara ve periodontitisin ve periodontal olarak sağlıklı bireylerin LPO düzeyleri de incelenmiştir. Tüm bulguları toplu olarak değerlendirdiğimizde, bizim çalışmamızın sonuçları sigara ve/veya periodontitisin MDA düzeyini ve dolaylı olarak oksidatif stresi arttırdığını gösteren çalışmalar ile uyumludur.

Sonuç olarak, sigara ve/veya periodontitise bağlı LPO düzeyinin arttığını gösteren çalışmamızın bulguları ve bizim çalışmamızın bulguları ile paralellik gösteren diğer çalışmaların sonuçları, sigara ve periodontitise bağlı artan LPO'nun sadece lokalize kalmayıp aynı zamanda sistemik bir yanıtta oluşturduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Sistemik olarak artan LPO sonucunda Tomofuji ve arkadaşlarına göre göre (272), sirkülasyondaki lipid peroksitlerin toksisitesi düşük olmakla birlikte, vücutta uzun süre kalabilme özellikleri vardır ve bu nedenle çok sayıda organda LPO'ya bağlı sorunlar gözlenmektedir. LPO'nun bu etkilerine bağlı olarak, MDA ile beslenen hayvanlarda tümör ve hiperplazi insidansının arttığı rapor edilmiştir. Tomofuji ve ark. (272) fareler üzerinde yaptıkları çalışmada periodontitisin plazma lipid peroksit düzeyini arttırdığını ve karaciğerde oksidatif stresi artırıcı etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları, serumdaki artan LPO düzeyinin ciddi sistemik problemlere yol açacağına işaret etmektedir. Bu nedenle, sigaranın ve periodontitisin LPO üzerindeki etkisinin sistemik değerlendirilmesi, sistemik sağlığın takibi yönünden uygun bir bakış açısı olabilir.

OSİ, oksidatif stres derecesini daha net ortaya koymak amacı ile geliştirilen güncel bir parametredir (7). Temel olarak TOD ve TAOK arasındaki oransal bir değer olan bu indeks, son yıllarda çeşitli oksidatif stres çalışmalarında kullanılırken, sigara ve periodontitis arasındaki ilişkinin oksidatif hasar açısından değerlendirilmesi amacı ile sigara kullanan periodontitisli bireylerde ilk defa kullanılmıştır.

Çalışmamızda serum OSİ değerleri, sigara içen periodontitisli bireylerde diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksek iken, sadece sigara ve periodontitis tablolarında da sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek OSİ gözlenmiştir. Tükürük OSİ değerlendirildiğinde ise, sigara ve/veya periodontitis tablosunda, OSİ'nin kontrollerle karşılaştırıldığında önemli derecede arttığını ve en yüksek OSİ'nin sigara içen periodontitis grubunda olduğunu, her üç grubun kontrollere göre fark göstermesine karşın, bu üç grup arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. Serum ve tükürük OSİ düzeylerinde de en yüksek değerler sigara içen periodontitisli bireylerde gözlenirken, en düşük değerler kontrol grubunda gözlenmiştir. Serum ve tükürük OSİ bulgularımızı bir arada değerlendirdiğimizde, sistemik OSİ'nin sigara ve periodontitis grubunda diğer gruplara göre fark gösterirken, lokal OSİ de sadece kontrollere göre fark olması sigara ve periodontitisin OSİ'de lokale göre daha belirgin sistemik bir etki ortaya koyduğunu göstermektedir. Sonuç

olarak, sigara ve periodontitisin OSİ üzerindeki etkisinin sistemik düzeyde lokale göre daha belirgin olduğunu düşünmekteyiz.

Bulgularımız, sigara kullanımı ve periodontitisteki sistemik ve lokal TAOK ve TOD değerlerini incelediğimizde elde ettiğimiz bulgulara paralellik gösterecek şekilde, sistemik ve lokal OSİ'nin de sigara ve periodontitis durumundan etkilendiğini göstermektedir.

OSİ, TAOK ve TOD arasındaki oransal bir değer olduğu için oksidan ve antioksidan durumdan direkt olarak etkilenmektedir. Bulgularımız, sistemik OSİ'nin laboratuvar parametreleri üzerindeki etkisinin TAOK sonuçlarına benzer olduğunu ve aynı şekilde sigara ve periodontitis durumunda sadece sigara veya periodontitise göre daha belirgin bir oksidatif stres meydana geldiğini göstermektedir. Tükürük OSİ değerlerimiz ise, tükürük TOD bulgularımız ile paralellik göstermektedir. OSİ sigara ve/veya periodontitis gruplarında kontrollere göre artarken her üç grup arasında önemli fark bulunmamaktadır. Tüm bu sonuçlar, sistemik etkinin lokal etkiden daha belirgin olduğu düşüncemizi güçlendirmektedir.

OSİ ile klinik parametreler arasındaki ilişkileri değerlendirdiğimizde, klinik parametreler ve serum OSİ arasında istatistiksel olarak önemli pozitif yönde zayıf ilişkiler bulunduğunu gözlerken, klinik parametreler ve tükürük OSİ arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir ilişki saptayamadık. Bu sonuçlar, sistemik OSİ bulgularının lokal OSİ'ye göre daha belirgin olduğunu gösteren bulgularımız ile uyumluluk göstermektedir.

Çok sayıda sistemik hastalık ve durumun, lokal ve periferik OSİ değerlerindeki artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Akbayram ve ark. (123) akut ve kronik immün trombositopenik purpurası olan hastalarda OSİ'nin yükseldiğini bildirmişlerdir. Öztürk ve ark. (273) preeklempatik hamilelerde OSİ'nin belirgin derecede yükseldiğini rapor etmişlerdir. Alp ve ark. (274) migren hastalarının plazma OSİ değerlerinin arttığını göstermişlerdir. Kavaklı ve ark. (275) karbonmonoksit zehirlenmesi geçirmekte olan bireylerin kan örneklerinde OSİ düzeylerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Sigaranın OSİ değerlerine etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, sigara dumanına maruz kalan pasif içici annelerde ve bebeklerinde, plazma OSİ değerlerinin oldukça yükseldiği gözlenmiştir (132). Bu araştırmaların sonuçlarını göz önüne aldığımızda, sistemik OSİ'nin arttığını gösteren bulgularımız, sigara ve periodontitis tablosunda sistemik düzeyde daha önemli klinik sorunlar ortaya çıkabileceğini düşündürdüğü

için, periodontitisli bireylerdeki OSİ'nin değerlendirilebilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda aynı zamanda, sigara kullanımında kontrollere göre serumda daha yüksek TOD ve OSİ değerleri gözlerken, serum MDA düzeylerinin kontrollere göre istatistiksel olarak değişmediğini belirledik. Bununla birlikte, sigara kullanımında tükürük TOD, MDA ve OSİ değerleri kontrollere göre önemli derecede yüksek idi. Nikotin ve oksidatif stres parametreleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalara bakıldığında, genel olarak çalışmamızın bulgularıyla benzer şekilde nikotinin oksidatif stresi indüklediği görülmektedir.

Yıldız ve ark. nikotinin yumurtalık hücrelerinde GSH düzeyini düşürdüğünü, MDA ve LDH düzeyini ise arttırdığını göstermişlerdir (276). Nikotin metabolizması oksijen gerektirir ve sitokrom p-450'nin mono-oksijenazları tarafından yönlendirilir. Nikotin tarafından indüklenen maksimum oksidatif stres, fare beynindeki mitokondride gösterilmiştir. Wetscher ve ark. (277) farelerin homojenize pankreatik dokularında, nikotin dozu ve LPO arasında pozitif korelasyon olduğunu ve nikotin tarafından indüklenen bu yanıtın SOD ve katalaz eklendiğinde ortadan kalktığını göstermişlerdir. Ayrıca, Agnihotri ve ark. (162) sigara kullanan periodontitisli bireylerin tükürük ve DOS'unda SOD enzim düzeylerinin kullanmayanlara kıyasla belirgin derecede düştüğünü ve bu düşüşün sigara kullanım dozuyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Ancak nikotinin oksidatif stresi azaltma kapasitesi olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur. Soto ve ark. (250) nikotin tedavisinin fare beynindeki mitokondriyal kesitlerde, 6-hidroksidopamin oksidasyonu ile provoke edilen lipid peroksidasyonunu azaltma kapasitesi olduğu göstermişlerdir. Linert ve ark. (278) ise, hem in vivo hem de in vitro olarak nikotin tedavisinin ROT formasyonuna veya lipid peroksidasyonuna herhangi bir etkisi olmadığını göstermişlerdir.

Guan ve ark. (247) yüksek doz nikotinin oksidatif stresi stimule edip nörotoksiteyi indükleyebildiğini, düşük konsantrasyonların ise antioksidan gibi davranıp nöroprotektif etkisinin olabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmesi, nikotinin inflamasyondaki bifazik rolü nedeniyle, konsantrasyona ve hücre tipine bağlı olarak farklı etkiler göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Kotinin, vücut sıvılarındaki nikotinin majör metaboliti olup, mevcut sigara kullanımının veya sigara dumanına ekspozun kesin bir indikatörüdür (11). Kotininin, plazma yarı ömrü 10-30 saat arasında değişmektedir ve yarı ömrü 30 dakika kadar olan nikotine göre ekstraselüler sıvılardaki stabilitesi ve konsantrasyonu oldukça yüksektir (252). Çalışmamıza katılan bireylerin tükürük kotinin seviyeleri ölçülerek gerçek sigara kullanım durumları belirlenmiştir. Tükürük kotinin düzeyleri sigara kullanan ve kullanmayan tüm bireylerde ölçülmüş ve sigara kullanan periodontal olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerde yüksek düzeyde kotinin bulunurken, sigara kullanmayan bireylerde kotinin düzeyi hiç bir şekilde saptanamamıştır. Sigara kullanan bireylerdeki kotinin düzeyi ile klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde korelasyonlar gözlenmiştir. Bu bulgular, sigaranın klinik periodontal parametreler üzerindeki olumsuz etkisini bir kez daha diğer araştırma sonuçlarına benzer şekilde ortaya koymaktadır.

Bireylerin sigara kullanım alışkanlığını veya çevresel sigara dumanına ekspozlarını belirlemek amacıyla, nikotin veya kotinin, karboksihemoglobin, tiyosiyanat ve karbonmonoksit gibi biyokimyasal belirteçler kullanılabilir (256). Pojer ve ark. sigara kullanan bireyleri kullanmayanlardan ayırmada, kotinin düzeyi ölçümünün karboksihemoglobin ve tiyosiyanattan daha üstün olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca yarı ömrü çok kısa olduğundan, nikotinin ideal bir belirteç olmadığı bilinmektedir (256).

Kotinin düzeylerinin oksidatif stres parametreleri ile olan ilişkisini incelediğimizde, kotinin tüm sistemik TAOK, TOD, MDA düzeyleri ve OSI ile istatistiksel olarak önemli pozitif korelasyonları bulunduğunu görmekteyiz. Tüm bu sonuçlar, sigaranın sadece klinik periodontal parametreler üzerinde değil, oksidatif stres parametreleri üzerinde de etkili olduğunu ve serum ve tükürükteki kotinin düzeyi arttıkça oksidatif stresin doğru orantılı olarak arttığını göstermektedir.

Vücut sıvılarındaki kotinin düzeyi ile periodontitis arasındaki ilişkiyi vurgulayan sadece birkaç çalışma bulunmaktadır. Yamamoto ve ark. (11) aktif ve pasif sigara kullanımı ile periodontitis arasındaki ilişkiyi tükürük kotinin düzeyi üzerinden inceledikleri çalışmalarında, tükürük kotinin düzeyinin periodontitis için bağımsız bir risk indikatörü olabileceğini belirtmişlerdir. Gonzalez ve ark. (279) serum kotinin düzeyinin periodontal ataçman kaybının

şiddetiyle pozitif ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Chen ve ark. (280) ise, tükürük ve DOS kotinin düzeylerinin periodontal klinik parametreler ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir.

Sigara kullanan bireylerin DOS'unda bulunan nikotin konsantrasyonu, plazmadakinin 300 katı kadardır. Bu durumun, nikotinin gingival kan akışını azaltmasıyla sonuçlanması beklenirken aktif sigara kullanımı sırasında, gingival kan akımının değişmediği veya arttığı, lazer Doppler flowmetresi ile ölçülerek gösterilmiştir (1). Bu durum sigaranın akut ve kronik etkilerinin farklı olduğunu göstermektedir. Sigara kullanımının bırakılmasından 3-5 gün sonra gingival kan akışı ile DOS akışının ve sondlamada kanamanın arttığı rapor edilmiştir (1). Benzer şekilde deneysel gingivitiste, görülebilir damarların, sigara kullananlarda kullanmayanlara kıyasla daha az belirgin olduğu belirtilmiştir (1).

Çalışmamızda sigara kullanan periodontitisli bireylerin Kİ ve Gİ değerlerinin sigara kullanmayan periodontitisli bireylerden daha düşük oluşu bu bulgularla benzerlik göstermektedir. Sigara kullanan bireylerde, periodontal ataçman ve kemik kaybının kullanmayan bireylere kıyasla oldukça yüksek olduğu çok sayıda çalışmada gösterilmiştir ve bugün için bilinmektedir ki sigara kullanımı, bakteriyel plaktan sonra periodontal hastalık için en önemli modifiye edilebilir risk faktörüdür. Çalışmamızın hem klinik hem de laboratuvar sonuçları bu ortak görüşle uyumludur.

Güncel çalışmalar, sigaranın çeşitli sistemik hastalıklar veya durumlar üzerindeki olumsuz etkisinin sigara kullanım miktarı ile doğru orantılı olduğuna işaret etmektedir (221, 228). Bunun yanı sıra, sigarayı bırakan kişilerin hiç sigara kullanmayan bireylerdeki kadar olmasa bile vücut fonksiyonlarının bir süre sonra normale döndüğü araştırmacılar tarafından önemle vurgulanmaktadır (1). Sigara kullanım süresi ve dozunun araştırma sırasında kayıt altına alınması, sigaranın olumsuz etkilerinin derecesini belirlemek açısından önemlidir. Çoğu çalışmada, sigara kullanım miktarındaki değişiklikler, bireylerin sigara kullanım durumu anket yapılarak ölçülmüştür (279). Ancak bildirilen sigara kullanımının doğruluğu sıklıkla sorgulanmalıdır. Çünkü genel kanı, sigara kullananların kullandıkları sigara miktarını küçümsedikleri veya sigara kullanımını tamamiyle reddettikleri yönündedir. Bunun yanı sıra, günümüzde pek çok insan farkında olmadan çevresel sigara dumanına maruz kalmaktadır. Sigara ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi incelen son çalışmalar, sadece sigara kullanan bireylerin değil aynı zamanda pasif içicilerde de oksidatif stresin arttığını göstermektedir (7,

132). Tüm bu neden ve sonuçlardan dolayı, kişiler sigarayı bırakma konusunda teşvik edilmektedir.

Son yıllarda, periodontitisin patogeneğinde oksidatif stresin hangi aşamada ve nasıl rol oynadığı tam olarak bilinmese de, periodontal hasarda ve periodontitisin risk faktörleri arasında kabul edilen sigaranın patolojisinde oksidatif stresin önemli bir yeri olduğu belirtilmektedir. Çalışmamızda sigara kullanımının, periodontitise bağlı meydana gelen oksidatif hasar üzerindeki ilave etkisini saptayabilmek amacı ile sigara içen periodontitisli bireylerde TAOK, TOD, MDA düzeyleri ve OSİ incelenmiştir. Bizim bulgularımıza göre, sigara kullanımı ve/veya kronik periodontitis tablosu sistemik ve lokal TAOK'u azaltırken, TOD, MDA ve OSİ'de artışa neden olmaktadır. Özetle, sigaranın sistemik ve lokal oksidatif stres parametrelerinde en az periodontitis kadar etkili olduğunu ve sigaraya bağlı meydana gelen oksidatif stresin, periodontitisin patolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. Oksidatif stresin sigara ve/veya periodontitisteki yerinin anlaşılması, sigara ile periodontitis arasındaki ilişkinin patojenik mekanizmalarını aydınlatma ve tedavi yaklaşımları açısından çok yararlı olabilir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışmamızın sonuçlarını değerlendirdiğimizde;

1. Serum TAOK, sigara kullanan periodontitisli grupta diğer gruplara göre, sigara ve periodontitis gruplarında kontrollere göre önemli derecede düşük bulunmuştur.
2. Tükürük TAOK, sigara kullanan periodontitisli grupta diğer gruplara göre önemli derecede düşük iken, diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.
3. Serum ve tükürük TOD değerleri sigara ve/veya periodontitis gruplarında kontrollere göre önemli derecede yüksek iken, diğer gruplar arası tüm karşılaştırmalarda önemli bir fark bulunamamıştır.
4. Serum MDA değerleri sadece S+P+ grubunda kontrollere göre önemli derecede yüksek iken, diğer gruplar arası tüm karşılaştırmalarda önemli bir fark bulunmamıştır.
5. Tükürük MDA, S+P+ grubunda diğer gruplara göre, S-P+ ve S+P- gruplarında kontrollere göre önemli derecede yüksek bulunmuştur.
6. Serum OSİ, S+P+ grubunda diğer gruplara göre, S-P+ ve S+P- gruplarında kontrollere göre önemli derecede yüksek bulunmuştur.
7. Tükürük OSİ, sigara ve/veya periodontitis gruplarında kontrollere göre önemli derecede yüksek iken, diğer gruplar arası tüm karşılaştırmalarda önemli bir fark bulunmamıştır.

8. Sigara gruplarının [(S+P+), (S+P-)] tükürük kotinin değerlerinin, sigara içmeyen gruplara [(S-P-), (S-P-; kontrol)] göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür.

Özetle, sigaranın sistemik ve lokal oksidatif stres parametrelerinde en az periodontitis kadar etkili olduğunu ve sigaraya bağlı meydana gelen oksidatif stresin, periodontitisin patolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. Oksidatif stresin sigara ve/veya periodontisteki yerinin anlaşılması, sigara ile periodontitis arasındaki ilişkinin patojenik mekanizmalarını aydınlatma ve tedavi yaklaşımları açısından çok yararlı olabilir.

7. ÖZET

AMAÇ

Bu çalışmanın amacı; kronik periodontitisli bireylerde sigara kullanımının, sistemik ve lokal total antioksidan kapasite (TAOK), total oksidatif durum (TOD), malondialdehit (MDA) düzeyleri ve oksidatif stres indeksi (OSİ) üzerindeki etkisini incelemektir.

MATERYAL ve METOD

Çalışmaya 72 kronik periodontitisli [38 sigara kullanan (S+P+), 34 sigara kullanmayan (S-P+)] ve 54 periodontal olarak sağlıklı [28 sigara kullanan (S+P-), 26 sigara kullanmayan (S-P-; kontrol)] birey dahil edildi. Klinik ölçümleri ve örneklemi takiben kotinin, TAOK, TOD, MDA düzeyleri ölçüldü. OSİ, [(TOD/TAOK) x100] formülü ile hesaplandı ve elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

BULGULAR

Sigara kullanımı ve periodontitiste serum ve tükürük TAOK düzeylerinin azaldığı, TOD, MDA düzeyleri ve OSİ'nin arttığı belirlendi. En düşük TAOK ve en yüksek TOD, MDA düzeyleri ve OSİ'nin S+P+ grubunda, en yüksek TAOK ve en düşük TOD, MDA ve OSİ değerlerinin kontrollerde olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Oksidatif stresin analizinde, sigaranın sistemik ve lokal etkisinin periodontitise göre daha belirgin olduğu, ancak sigara (S+P-) ve periodontitis (S-P+) grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). Tüm gruplarda, klinik parametreler ve oksidatif stres parametreleri arasında önemli pozitif ve negatif korelasyonlar tespit edildi ($p<0.05$).

TARTIŞMA

Sigara kullanımı ve/veya kronik periodontitis tablosu sistemik ve lokal TAOK'u azaltırken, TOD, MDA ve OSİ'de artışa neden olmaktadır. Çalışmamızın bulguları, sigaranın sistemik ve lokal oksidatif stres parametrelerinde en az periodontitis kadar etkili olduğunu ve sigaraya bağlı meydana gelen oksidatif stresin, periodontitisin patolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kronik Periodontitis, Sigara, Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidatif Durum, Malondialdehit, Oksidatif Stres İndeksi, Kotinin.

8. ABSTRACT

The evaluation of the effects of smoking to the Total Antioxidant Capacity, Total Oxidant Status and Lipid Peroxidation levels in serum and saliva in individuals with Chronic Periodontitis.

AIM

The aim of this study is to evaluate the effects of smoking to the systemic and local total antioxidant capacity (TAOC), total oxidative status (TOS), malondialdehyde (MDA) levels and oxidative stress index (OSI) in patients with chronic periodontitis.

MATERIAL AND METHODS

72 chronic periodontitis patients [38 smokers (S +P+), 34 non-smokers (S-P+)] and 54 periodontally healthy individuals [28 smokers (S+P-), 26 non-smokers (S-P-, control)] were included in the study. Following clinical measurements and samples; cotinine, TAOC, TOS and MDA levels were determined. OSI was calculated by the formula “[$(TOS/TAOC) \times 100$]” and the obtained data were analyzed statistically.

FINDINGS

In smoking and periodontitis reduction in serum and salivary TAOC levels and increase in TOS, MDA levels and OSI were determined. The lowest TAOC and the highest TOS, MDA levels and OSI were seen in S+P+ group whereas the highest TAOC and the lowest TOS, MDA levels and OSI were observed in controls ($p < 0.05$). In oxidative stress analysis the systemic and local effect of smoking seemed more evident compared to periodontitis but no statistically significant difference were found between smoking (S+P-) and periodontitis (S-P+) groups. In all groups, significant positive and negative correlations between clinical parameters and oxidative stress parameters were determined ($p < 0.05$).

DISCUSSION

Smoking and/or chronic periodontitis table decreases systemic and local TAOC while increasing TOS, MDA and OSI. The findings of our study show that smoking is at least as effective as periodontitis in systemic and local oxidative stress parameters and smoking-related oxidative stress may play an important role in the pathology of periodontitis.

Key Words: Chronic Periodontitis, Smoking, Total Antioxidant Capacity, Total Oxidative Status, Malondialdehyde, Oxidative Stress Index, Cotinine.

9. KAYNAKLAR

1. Johnson, G.K., Guthmiller, J.M.: The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontol* 2000, 44: 178-194, 2007.
2. Tonguç, M.O., Oztürk, O., Sütü, R., Ceyhan, B.M., Kılınç, G., Sönmez, Y., Ay, Z.Y., Sahin, U., Baltacıoğlu, E., Kırzioğlu, F.Y.: The Impact of Smoking Status on Antioxidant Enzyme Activity and Malondialdehyde Levels in Chronic Periodontitis. *J Periodontol.*, 2011.
3. Akalin, F.A., Baltacıoğlu, E., Alver, A., Karabulut, E.: Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.*, 34: 558-565, 2007.
4. Halliwell, B., Free radicals and antioxidants -quo vadis? *Trends Pharmacol Sci.*, 32(3): 125-30, 2011.
5. Baltacıoğlu, E., Akalin, F.A., Alver, A., Balaban, F., Unsal, M., Karabulut, E.: Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in post-menopausal women with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.*, 33: 385-392, 2006.
6. Canakci, C.F., Cicek, Y., Canakci, V.: Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochem.*, 70: 619-628, 2005.
7. Aycicek, A., Erel, O., Kocyigit, A.: Increased oxidative stres in infants exposed to passive smoking. *Eur J Pediatr.*, 164: 775-778, 2005.

8. Buduneli, N., Kardesler, L., Isik, H., Willis, C.S., Hawkins, S.I., Kinane, D.F., Scott, D.A.: Effects of smoking and gingival inflammation on salivary antioxidant capacity. *J Clin Periodontol.*, 33: 159-164, 2006.
9. Sato, J., Takahashi, I., Umeda, T., Matsuzaka, M., Danjyo, K., Tsuya, R., Kida, K., Takami, H., Nakaji, S.: Effect of alcohol drinking and cigarette smoking on neutrophil functions in adults. *Luminescence.*, 2011.
10. Matthews, J.B., Chen, F.M., Milward, M.R., Wright, H.J., Carter, K., McDonagh, A., Chapple, I.L.C.: Effect of nicotine, cotinine and cigarette smoke extract on the neutrophil respiratory burst. *J Clin Periodontol.*, 38: 208-218, 2011.
11. Yamamoto, Y., Nishida, N., Tanaka, M., Hayashi, N., Matsuse, R., Nakayama, K., Morimoto, K., Shizukuishi, S.: Association between passive and active smoking evaluated by salivary cotinine and periodontitis. *J Clin Periodontol.*, 32(10): 1041-1046, 2005.
12. Istavan, J.A., Nides, M.A., Buist, A.S., Green, P., Voelker, H.: Salivary cotinine, frequency of cigarette smoking, and body mass index: findings at baseline in the lung health study. *American Journal of Epidemiology.*, 139: 628-636, 1994.
13. Tsai, C.C., Chen, H.S., Chen, S.L., Ho, Y.P., Ho, K.Y., Wu, Y.M., Hung, C.C.: Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontal Res.*, 40: 378-384, 2005.
14. Chapple, I.L., Brock, G.R., Milward, M.R., Ling, N., Matthews, J.B.: Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect. *J Clin Periodontol.*, 34: 103-110, 2007.
15. Chapple, I.L.C., Mason, I., Garner, I., Matthews, J.B., Thorpe, G.H., Maxwell, S. R.J., Whitehead, T.P.: Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann Clin Bio.*, 34: 412-421, 1997.

16. Panjamurthy, K., Manoharan, S., Ramachandran, C.R.: Lipid peroxidation and anti-oxidant status in patients with periodontitis. *Cell Mol Biol Lett.*, 10: 255–264, 2005.
17. Flemming, T.F.: Periodontitis. *Ann Periodontol.*, 4: 32-37, 1999.
18. Armitage, G.C., Cullinan, M.P.: Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*, 53: 12-27, 2010.
19. Bascones-Martinez, A., Munoz-Corcuera, M., Noronha, S., Mota, P., Bascones- Ilundain, C., Campo-Trapero, J.: Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.*, 14(12): 680-685, 2009.
20. Highfield, J.: Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J.*, 54: 11-26, 2009.
21. Novak, M.J.: Classification of Diseases and Conditions Affecting the Periodontium. In Carranza's Clinical Periodontology.10th Edit. M.G. Newman, H.H. Takei, P.R. Klokkevold and F.A. Carranza (Eds) Saunders Elsevier, 2006, pp.100-108.
22. Kornman, K.S.: Mapping the Pathogenesis of Periodontitis: A New Look. *J Periodontol.*, 79: 1560-1568, 2008.
23. Armitage, G.C.: Classifying periodontal diseases-a long standing dilemma. *Periodontol 2000*, 30: 9-23, 2002.
24. Armitage, G.C.: Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.*, 4: 1–6, 1999.
25. Goodson, J.M., Tanner, A.C.R., Haffajee, A.D., Sornberger, G.C., Socransky, S.S.: Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol.*, 9: 472–481, 1982.

26. Kinane, D.F.: Periodontitis modified by systemic factors. *Ann Periodontol.*, 4: 54-64, 1999.
27. Socransky, S.S., Haffajee, A.D.: Microbiology of periodontal diseases: introduction. *Periodontol 2000*, 38: 9-12, 2005.
28. Tanner, A.C.R., Kent, J.R., Kanasi, E., Lu, S.C., Paster, B.J., Sonis, S.T., Murray, L.A., Van Dyke, T.E.: Clinical characteristics and microbiota of progressing slight chronic periodontitis in adults. *J Clin Periodontol.*, 34: 917-930, 2007.
29. Sawamoto, Y., Sugano, N., Tanaka, H., Ito, K.: Detection of periodontopathic bacteria and an oxidative stress marker in saliva from periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol.*, 20: 216–220, 2005.
30. Darveau, R.P.: Oral Microbial Interactions: The Oral Microbial Consortium's Interaction with the Periodontal Innate Defense System. *DNA and Cell Biology*, 28: 389–395, 2009.
31. Van Dyke, T.E., Serhan, C.N.: Resolution of Inflammation: A New Paradigm for the Pathogenesis of Periodontal Diseases. *J Dent Res.*, 82(2): 82-90, 2003.
32. Loesche, W.J.: Bacterial mediators in periodontal disease. *Clin Infect Dis.*, 16(4): 203-213, 1993.
33. Page, R.C., Kornman, K.S.: The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000.*, 14: 9-11, 1997.
34. Ohlrich, E.J., Cullinan, M.P., Seymour, G.J.: The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J.*, 54: 2-10, 2009.
35. Buduneli, N., Özçaka, Ö., Nalbantsoy, A.: Salivary and Plasma Levels of Toll-like Receptor 2 and Toll-Like Receptor 4 in Chronic Periodontitis. *J. Periodontol.*, 2010.

36. Birkedal-Hansen H.: Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res.*, 28: 500-510, 1993.
37. Nisengard, R.J., Haake, S.K., Newman, M.G., Miyasaki, K.T.: Microbial Interactions with the Host in Periodontal Diseases. In Carranza's Clinical Periodontology. 10th Edit. M.G. Newman, H.H. Takei, P.R. Klokkevold and F.A. Carranza (Eds) Saunders Elsevier, 2006, pp.228-245.
38. Haffajee, A.D., Socransky, S.S., Taubman, M.A., Sioson, J., Smith, D.J.: Patterns of antibody response in subjects with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.*, 10: 129-137, 1995.
39. Dixon, D.R., Bainbridge, B.W., Darveau, R.P.: Modulation of the innate immune response within the periodontium. *Periodontol* 2000, 35: 53-74, 2004.
40. Pussinen, P.J., Paju, S., Mantyla, P., Sorsa, T.: Serum microbial and host-derived markers of periodontal diseases: a review. *Curr Med Chem.*, 14: 2402-2412, 2007.
41. Gonçalves, T.O., Costa, D., Brodskyn, C.I., Duarte, P.M., Neto, J.B.C., Nogueira-Filho, G.: Release of cytokines by stimulated peripheral blood mononuclear cells in chronic periodontitis. *Arch Oral Biol.*, 55: 975-980, 2010.
42. Ebersole, J.L.: Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontol* 2000, 31: 135-66, 2003.
43. Kinane, D.F., Lappin, D.F.: Immune processes in periodontal disease: a review. *Ann Periodontol.*, 7: 62-71, 2002.
44. Papapanou, P.N., Neiderud, A.M., Sandros, J., Dahlen, G.: Checkerboard assessments of serum antibodies to oral microbiota as surrogate markers of clinical periodontal status. *J Clin Periodontol.*, 28: 103-106, 2001.

45. Van Dyke, T.E.: The Management of Inflammation in Periodontal Disease. *J Periodontol.*, 79: 1601-1608, 2008.
46. Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Goodson, J.M., Lindhe, J.: New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol.*, 11(1): 21-32, 1984.
47. Davenport, R.H., Simpson, D.M., Hassell, T.M.: Histometric comparison of active and inactive lesions of advanced periodontitis. *J Periodontol.*, 53: 285-295, 1982.
48. Takane, M., Sugano, N., Ezawa, T., Uchiyama, T., Ito, K.: A marker of oxidative stress in saliva: association with periodontally - involved teeth of a hopeless prognosis. *J Oral Sci.*, 47: 53-57, 2005.
49. Miller, C.S., Foley, J.D., Bailey, A.L., Campell, C.L., Humphries, R.L., Christodoulides, N., Floriano, P.N., Simmons, G., Bhagwandin, B., Jacobson, J.W., Redding, S.W., Ebersole, J.L., McDevitt, J.T.: Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med.*, 4(1): 171-189, 2010.
50. Khalili, J., Biloklytska, H.F.: Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Dis.*, 14(8): 754-760, 2008.
51. Edgar, W.M.: Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J.*, 172: 305–312, 1992.
52. Battino, M., Ferreiro, M.S., Gallardo, I.: The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol.*, 29: 189–194, 2002.
53. Roussa, E.: Channels and transporters in salivary glands. *Cell Tissue Res.*, 343(2): 263-287, 2011.
54. Su, H., Gornitsky, M., Velly, A.M., Yu, H., Benarroch, M., Schipper, H.M.: Salivary DNA, lipid, and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease. *Free Radic Biol Med.*, 46: 914-921, 2009.

55. Llana-Puy, C.: The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.*, 11: 449-455, 2006.
56. Nagler, R.M., Klein, I., Zarzhevsky, N., Drigues, N., Reznick, A.Z.: Characterization of the differentiated antioxidant profile of human saliva. *Free Radic Biol Med.*, 32: 268-277, 2002.
57. Streckfus, C.F., Bigler, L.R.: Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Dis.*, 8: 69-76, 2002.
58. Sato, T.P.: A pH curve of human resting saliva sampled with a small paper slip and its medical application. *Pathophysiology*, 8: 283-290, 2002.
59. Kaufman, E., Lamster, I.B.: Analysis of saliva for periodontal diagnosis: a review. *J Clin Periodontol.*, 27: 453-465, 2000.
60. Skougaard, M.R., Bay, I., Kilnhammer, J.M.: Correlation between gingivitis and orogranulocytic migratory rate. *J Dent Res.*, 48: 716-718, 1969.
61. Wei, D., Zhang, X.L., Wang, Y.Z., Yang, C.X., Chen, G.: Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Aust Dent J.*, 55: 70-78, 2010.
62. Ekuni, D., Tomofuji, T., Sanbe, T., Irie, K., Azuma, T., Takayuki Maruyama, T., Tamaki, N., Murakami, J., Koikeguchi, S., Yamamoto, T.: Vitamin C intake attenuates the degree of experimental atherosclerosis induced by periodontitis in the rat by decreasing oxidative stress. *Arch Oral Biol*, 54: 495-502, 2009.
63. Brock, G.R., Butterworth, C.J., Matthews, J.B., Chapple, I.L.C.: Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol.*, 31: 515-521, 2004.

64. Konopka, T., Krol, K., Kopec, W., Gerber, H.: Total antioxidant status and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in gingival and peripheral blood of periodontitis patients. *Arch Immunol Ther Exp.*, 55: 417-425, 2007.
65. Canakci, V., Yildirim, A., Canakci, C.F., Eltas, A., Cicek, Y., Canakci, H.: Total Antioxidant Capacity and Antioxidant Enzymes in Serum, Saliva, and Gingival Crevicular Fluid of Preeclamptic Women With and Without Periodontal Disease. *J Periodontol.*, 78: 1602-1611, 2007.
66. Diab-Ladki, R., Pellat, B., Chahine, R.: Decrease in the total antioxidant activity of saliva in patients with periodontal diseases. *Clin Oral Invest.*, 7: 103-107, 2003.
67. Kılınç, K., Kılınç, A.: Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2): 110-118, 2002.
68. Akkuş, İ.: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
69. Binger, C.A., Faulkner, J.M., Moore, R.L.: Oxygen poisoning in mammals. *J Exp Med.*, 45(5): 849-864, 1927.
70. Gerschman, R., Gilbert, D., Nye, S.W., Dwyer, P., Fenn, W.O.: Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Science.*, 119: 623-626, 1954.
71. Halliwell, B.: Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.*, 91: 14-22, 1991.
72. Chapple, I.L.C., Matthews, J.B.: The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000.*, 43: 160-232, 2007.
73. Li, M.: KGF-1 and KGF Receptor Expression in Human Periodontal Disease and in vitro Microwounding-Associated Ligand-Independent KGFR Activation. Doctorate thesis, The University of British Columbia, 2007.

74. Valko, M., Morris, H., Cronin, M.T.: Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.*, 12(10): 1161-1208, 2005.
75. Battino, M., Bullon, P., Wilson, M., Newman, H.: Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med.*, 10: 458-476, 1999.
76. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J.: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.*, 39(1):44-84, 2007.
77. Waddington, R.J., Moseley, R., Embery, G.: Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis.*, 6(3): 138-151, 2000.
78. Halliwell, B.: The wanderings of a free radical. *Free Radic Biol Med.*, 46(5): 531-542, 2009.
79. Chapple, I.L.C.: Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol.*, 24: 287-296, 1997.
80. McCord, J.M.: Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.*, 26(5): 351-357, 1993.
81. Guentsch, A., Preshaw, P.M., Bremer-Streck, S., Klinger, G., Glockmann, E., Sigusch, B.W.: Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Invest.*, 12(4): 345-352, 2008.
82. Fattman, C.L., Schaefer, L.M., Oury, T.D.: Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med.*, 35: 236-256, 2003.
83. Halliwell, B.: Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide? *Trends Biochem. Sci.*, 31: 509-515, 2006.

84. Segal, A.W.: How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.*, 23: 197-223, 2005.
85. Massey V.: Activation of molecular oxygen by flavins and flavoproteins. *J Biol Chem.*, 269: 22459-22462, 1994.
86. Halliwell, B., Clement, M.V., Long, L.H.: Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett.*, 486: 10-13, 2000.
87. Abe, J., Berk, B.C.: Fyn and JAK2 mediate Ras activation by reactive oxygen species. *J Biol Chem.*, 274: 21003-21010, 1999.
88. Baeurele, P.A., Baltimore, D.: Activation of DNA binding activity in an apparently cytoplasmic precursor of the NF κ B transcription factor. *Cell.*, 53: 211-217, 1998.
89. Schreck, R., Ricber, P., Baeuerle, P.A.: Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *EMBO J.*, 10: 2247-2258, 1991.
90. Roebuck, K.A.: Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression: differential activation and binding of the transcription factors AP-1 and NF-kappaB. *Int J Med.*, 4: 223-230, 1999.
91. Clement, M.V., Ponton, A., Pervaiz, S.: Apoptosis induced by hydrogen peroxide is mediated by decreased superoxide anion concentration and reduction of intracellular milieu. *FEBS Lett.*, 440: 13-18, 1998.
92. Hampton, M.B., Orrenius, S.: Dual regulation of caspase activity by hydrogen peroxide: implications for apoptosis. *FEBS Lett.*, 414: 552-556, 1997.
93. Naseem, K.M., Bruckdorfer, K.R.: Hydrogen peroxide at low concentrations strongly enhances the inhibitory effect of nitric oxide on platelets. *Biochem J.*, 310: 149-153, 1995.

94. Carlsson, J.: Salivary peroxidase: an important part of our defence against oxygen toxicity. *J Oral Pathol.*, 16: 412-416, 1987.
95. Pastor, N., Weinstein, H., Jamison, E., Brenowitz, M.: A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBPDNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *J. Mol. Biol.*, 304: 55-68, 2000.
96. Leonard, S.S., Harris, G.K., Shi, X.: Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radic. Biol. Med.*, 37(12): 1921-1942, 2004.
97. Jomova, K., Vondrakova, D., Lawson, M., Valko, M.: Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Mol Cell Biochem.*, 345(1-2): 91-104, 2010.
98. McCord, J.M., Fridovich, I.: The biology and pathology of oxygen radicals. *Ann Intern. Med.*, 89(1): 122-127, 1978.
99. Halliwell, B.: The chemistry of free radicals. *Toxicol Ind Health.*, 9(1-2): 1-21, 1993.
100. Halliwell, B., Cross, C.E.: Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect.*, 10: 5-12, 1994.
101. Miyasaki, K.T.: The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J Periodontol*, 62(12): 761-74, 1991.
102. Gutteridge, J.M.: Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interact.*, 91(2-3): 133-40, 1994.
103. Bast, A., Haenen, G.R., Doelman, C.J.: Oxidants and antioxidants: state of the art. *Am J Med.*, 91(3): 2-13, 1991.

104. Kim, S.J., Kwon, D.Y., Kim, Y.S., Kim, Y.C.: Peroxyl Radical Scavenging Capacity of Extracts and Isolated Components from Selected Medicinal Plants. *Arch Pharm Res.*, 33: 867-873, 2010.

105. Aikens, J., Dix, T. A.: Perhydroxyl radical (HOO•) Initiated lipid-peroxidation-The role of fatty-acid hydroperoxides. *J Biol Chem.*, 266: 15091-15098, 1991.

106. Ghafourifar, P., Cadenas, E.: Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol. Sci.*, 26: 190-195, 2005.

107. Bergendi, L., Benes, L., Durackova, Z., Ferencik, M.: Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci.*, 65: 1865-1874, 1999.

108. Herrera, B.S., Martins-Porto, R., Campi, P., Holzhausen, M., Teixeira, S.A., Mendes, G.D., Costa, S.K., Gyurko, R., Van Dyke, T.E., Spolidório, L.C., Muscará, M.N.: Local and cardiorenal effects of periodontitis in nitric oxide-deficient hypertensive rats. *Arch Oral Biol.*, 56(1): 41-47, 2011.

109. Reiter, R.J.: Melatonin, active oxygen species and neurological damage. *Drug News Perspect.*, 11(5): 291-296, 1998.

110. Carr, A.C., McCall, M.R., Frei, B.: Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 20(7): 1716-1723, 2000.

111. Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J.: Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem.*, 266(1-2): 37-56, 2004.

112. Shimomura, Y., Nishikimi, M., Ozawa, T.: Novel purification of cytochrome c1 from mitochondrial Complex III. Reconstitution of antimycin-insensitive electron transfer with the iron-sulfur protein and cytochrome c1. *J Biol Chem.*, 260(28): 15075-15080, 1985.

113. DeCoursey, T. E., Ligeti, E.: Regulation and termination of NADPH oxidase activity. *Cell. Mol. Life Sci.*, 62: 2173-2193, 2005.
114. Brent, J.A., Rumack, B.H.: Role of free radicals in toxic hepatic injury. I. Free radical biochemistry. *J Toxicol Clin Toxicol.*, 31(1): 139-71, 1993.
115. Çiçek, E.: Nükleer Tıp uygulamalarının hastalardaki serbest radikaller üzerine etkileri. Doktora tezi, Fizik Anabilim Dalı, Isparta 2005.
116. Toklu, E.: Erişkin periodontitisli bireylerde dişeti ve dişeti oluşu sıvısı süperoksit dismutaz enzim aktivite düzeyleri ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaç etkilerinin değerlendirilmesi. Doktora tezi, Hacettepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enst., Ankara 2001.
117. Bauer, V., Bauer, F.: Reactive oxygen species as mediators of tissue protection and injury. *Gen Physiol Biophys.*, 18: 7-14, 1999.
118. Huang, C.J., Webb, H.E., Evans, R.K., McCleod, K.A., Tangsilat, S.E., Kamimori, G.H., Acevedo, E.O.: Psychological stress during exercise: immunoendocrine and oxidative responses. *Exp Biol Med.*, 235(12): 1498-1504, 2010.
119. McCord, J.M.: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J*, 312(3): 159-163, 1985.
120. Reilly, P.M., Bulkley, G.B.: Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. *Br J Surg.*, 77(12): 1323-1324, 1990.
121. Ayres, J.G., Borm, P., Cassee, F.R., Castranova, V., Donaldson, K., Ghio, A., Harrison, R. M., Hider, R., Kelly, F., Kooter, I.M.: Evaluating the toxicity of airborne particulate matter and nanoparticles by measuring oxidative stress potential-a workshop report and consensus statement. *Inhal. Toxicol.*, 20: 75-99, 2008.
122. Fisher-Wellman, K., Bloomer, R.J.: Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med.*, 8: 1-25, 2009.

123. Akbayram, S., Doğan, M., Akgün, C., Mukul, Y., Peker, E., Bay, A., Caksen, H., Oner, A.F.: The association of oxidant status and antioxidant capacity in children with acute and chronic ITP. *J Pediatr Hematol Oncol.*, 32(4): 277-281, 2010.
124. Gutteridge, J.M.C., Halliwell, B.: Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochem Biophys Res Commun.*: 393: 561-564, 2010.
125. Canakci, C.F., Tatar, A., Canakci, V., Cicek, Y., Oztas, S., Orbak, R.: New evidence of premature oxidative DNA damage: mitochondrial DNA deletion in gingival tissue of patients with periodontitis. *J Periodontol.*, 77(11): 1894-1900, 2006.
126. Canakci, C.F., Cicek, Y., Yildirim, A., Sezer, U., Canakci, V.: Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent.*, 3(2): 100-106, 2009.
127. Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R., Milzani, A.: Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol Med.*, 9: 169-176, 2003.
128. Al-Rawi, N.H.: Oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in the saliva of type 2 diabetics. *Diab Vasc Dis Res.*, 8(1): 22-28, 2011.
129. Tarpey, M.M., Wink, D.A., Grisham, M.B.: Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 286: 431-444, 2004.
130. Tarpey, M.M., Fridovich, I.: Methods of detection of vascular reactive species: nitric oxide, superoxide, hydrogen peroxide, and peroxynitrite. *Circ Res.*, 89: 224-236, 2001.
131. Erel O.: A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.*, 38: 1103-1111, 2005.
132. Aycicek, A., Varma, M., Ahmet, K., Abdurrahim, K., Erel, O.: Maternal active or passive smoking causes oxidative stress in placental tissue. *Eur J Pediatr.*, 2010.

133. Siems, W., Crifo, C., Capuozzo, E., Uchida, K., Grune, T., Salerno, C.: Metabolism of 4-hydroxy-2-nonenal in human polymorphonuclear leukocytes. *Arch Biochem Biophys.*, 503(2): 248-252, 2010.
134. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.: *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third Edition. Oxford University Press. ISBN 1999; 1-29.
135. Basaga, H.S.: Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol.*, 68(7-8): 989-998, 1990.
136. de Zwart, L.L., Meerman, J.H., Commandeur, J.N., Vermeulen, N.P.: Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med.*, 26: 202-226, 1999.
137. Esterbauer, H., Cheeseman, K.H.: Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Meth Enzymol.*, 186: 407-421, 1990.
138. Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Lunec, J.: Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.*, 17(10): 1195-1214, 2003.
139. Evans, M.D., Cooke, M.S.: Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bioessays.*, 26(5): 533-542, 2004.
140. Gutteridge, J.M., Halliwell, B.: Comments on review of *Free Radicals in Biology and Medicine*, second edition, by Barry Halliwell and John M. C. Gutteridge. *Free Radic Biol Med.*, 12(1): 93-95, 1992.
141. Cadet, J., Douki, T., Gasparutto, D., Ravanat, J.L.: Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *Mutat Res.*, 531(1-2): 5-23, 2003.
142. Zastawny, T.H., Altman, S.A., Randers-Eichhorn, L., Madurawe, R., Lumpkin, J.A., Dizdaroglu, M., Rao, G.: DNA base modifications and membrane damage in cultured mammalian cells treated with iron ions. *Free Radic Biol Med.*, 18(6): 1013-1022, 1995.

143. Jessie, B.C., Sun, C.Q., Irons, H.R., Marshall, F.F., Wallace, D.C., Petros, J.A.: Accumulation of mitochondrial DNA deletions in the malignant prostate of patients of different ages. *Exp Gerontol* 37: 169-174, 2001.
144. Canakci, C.F., Canakci, V., Tatar, A., Eltas, A., Sezer, U., Cicek, Y., Oztas, S.: Increased salivary level of 8-hydroxydeoxyguanosine is a marker of premature oxidative mitochondrial DNA damage in gingival tissue of patients with periodontitis. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 57(3): 205-211, 2009.
145. Chiou, C.C., Chang, P.Y., Chan, E.C., Wu, T.L., Tsao, K.C., Wu, J.T.: Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta.*, 334: 87-94, 2003.
146. Wu, L.L., Chiou, C.C., Chang, P.Y., Wu, J.T.: Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clin Chim Acta.*, 339: 1-9, 2004.
147. Wang, A.L., Lukas, T.J., Yuan, M., Neufeld, A.H.: Increased mitochondrial DNA damage and down-regulation of DNA repair enzymes in aged rodent retinal pigment epithelium and choroid. *Mol Vis.*, 14: 644-651, 2008.
148. Kakimoto, M., Inoguchi, T., Sonta, T., Yu, H.Y., Imamura, M., Etoh, T., Hashimoto, T., Nawata, H.: Accumulation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and mitochondrial DNA deletion in kidney of diabetic rats. *Diabetes*, 51: 1588-1595, 2002.
149. Wada, T., Tanji, N., Ozawa, A., Wang, J., Shimamoto, K., Sakayama, K., Yokoyama, M.: Mitochondrial DNA mutations and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine Content in Japanese patients with urinary bladder and renal cancers. *Anticancer Res.*, 26: 3403-3408, 2006.
150. Lagadu, S., Lechevrel, M., Sichel, F., Breton, J., Pottier, D., Couderc, R., Moussa, F., Prevost, V.: 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a biomarker of oxidative damage in oesophageal cancer patients: lack of association with antioxidant vitamins and polymorphism of hOGG1 and GST. *J Exp Clin Cancer Res.*, 29: 157-167, 2010.

151. Dincer, Y., Erzin, Y., Himmetoglu, S., Gunes, K.N., Bal, K., Akcay, T.: Oxidative DNA damage and antioxidant activity in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.*, 52: 1636-1641, 2007.
152. Shacter, E.: Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev.*, 32: 307-326, 2000.
153. Baltacioglu, E., Akalin, F.A., Alver, A., Deger, O., Karabulut, E.: Protein carbonyl levels in serum and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol.*, 53: 716-722, 2008.
154. Dalle-Donne, I., Aldini, G., Carini, M., Colombo, R., Rossi, R., Milzani, A.: Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *J Cell Mol Med.*, 10: 389-406, 2006.
155. Gülbahar, Ö.: Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 10 (1): 43-48, 2007.
156. Gutteridge, J.M.C., Halliwell, B.: Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochem Biophys Res Commun.*: 393: 561-564, 2010.
157. Kajihara, J., Enomoto, M., Katoh, K., Mitsuta, K., Kohno, M.: Relationship between the ligand structure of copper and the stability of superoxide dismutase. *Agric Biol Chem.*, 54 (2): 495-499, 1990.
158. McCord, J.M., Fridovich, I.: Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *J Biol Chem.*, 244: 6049-6055, 1969.
159. Weisiger, R. A., Fridovich, I.: Mitochondrial superoxide dismutase. Site of synthesis and intramitochondrial localization. *J Biol Chem.*, 248: 4793-4796, 1973.
160. Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B.: Diabetes, oxidative stress and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxic.*, 17(1): 4-38, 2003.

161. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.: The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 280: 1-8, 1990.

162. Agnihotri, R., Pandurang, P., Kamath, S.U., Goyal, R., Ballal, S., Shanbhogue, A.Y., Kamath, U., Bhat, G.S., Bhat, K.M.: Association of cigarette smoking with superoxide dismutase enzyme levels in subjects with chronic periodontitis. *J Periodontol.*, 80: 657-662, 2009.

163. Wei, P.F., Ho, K.Y., Ho, Y.P., Wu, Y.M., Yang, Y.H., Tsai, C.C.: The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1*b* in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J Periodont Res.*, 39: 287-293, 2004.

164. Patel, S.P., Pradeep, A.R., Chowdhry, S.: Crevicular fluid levels of plasma glutathione peroxidase (eGPx) in periodontal health and disease. *Arch Oral Biol.*, 54: 543-548, 2009.

165. Yoshimura, S., Suemizu, H., Taniguchi, Y., Arimori, K., Kawabe, N., Moriuchi, T.: The human plasma glutathione peroxidase encoding gene: organization, sequence and localization to chromosome 5q32. *Gene.*, 145: 293-297, 1994.

166. Avissar, N., Ornt, D.B., Yagil, Y., Horowitz, S., Watkins, R.H., Kerl, E.A., Takahashi, K., Palmer, I.S., Cohen, H.J.: Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am J Physiol.*, 266: 367-375, 1994.

167. Wheeler, C.R., Salzman, J.A., Elsayed, N.M., Omaye, S.T., Korte, D.W.Jr.: Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. *Anal Biochem.*: 184(2): 193-199, 1990.

168. Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G., Siest, G.: Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem.*, 37(11): 1932-1937, 1991.

169. Comhair, S.A.A., Thomassen, M.J., Erzurum, S.C.: Differential induction of extracellular glutathione peroxidase and nitric oxide synthase 2 in airways of healthy individuals exposed to 100% O₂ or cigarette smoke. *Am J Respir Cell Mol Biol.*, 23: 350-354, 2000.
170. Shimizu, N., Kobayashi, K., Hayashi, K.: The reaction of superoxide radical with catalase. Mechanism of the inhibition of catalase by superoxide radical. *J Biol Chem.*, 259(7): 4414-4418, 1984.
171. Winterbourn, C.C.: Superoxide as an intracellular radical sink. *Free Radic Biol Med.*, 14: 85-90, 1993.
172. Staudte, H., Güntsch, A., Völpel, A., Sigusch, B.W.: Vitamin C attenuates the cytotoxic effects of *Porphyromonas gingivalis* on human gingival fibroblasts. *Arch Oral Biol.*, 55(1): 40-45, 2010.
173. Tomofuji, T., Ekuni, D., Sanbe, T., Irie, K., Azuma, T., Maruyama, T., Tamaki, N., Murakami, J., Koikeguchi, S., Yamamoto, T.: Effects of vitamin C intake on gingival oxidative stress in rat periodontitis. *Free Radic Biol Med.*, 46(2): 163-168, 2009.
174. Villacorta, L., Azzi, A., Zingg, J.M.: Regulatory role of vitamins E and C on extracellular matrix components of the vascular system. *Mol. Aspects Med.*, 28: 507-537, 2007.
175. Jialal, I., Vega, G.L., Grundy, S.M.: Physiologic levels of ascorbate inhibit the oxidative modification of low density lipoprotein. *Atherosclerosis.*, 82(3): 185-191, 1990.
176. Farriol, M., Mourelle, M., Schwartz, S.: Effect of vitamin C and vitamin E analog on aged fibroblasts. *Rev Esp Fisiol.*, 50: 253-257, 1994.
177. Vinson, J., Hsu, C., Possanza, C., Drack, A., Pane, D., Davis, R., Klock, C., Graser, K., Wang, X.: Lipid peroxidation and diabetic complications: effect of antioxidant vitamins C and E. *Adv Exp Med Biol.*, 366: 430-432, 1994.

178. Amaliya., Timmermann, M.F., Abbas, F., Loos, B.G., Van der Weijden, G.A., Van Winkelhoff, A.J., Winkel, E.G., Van der Velden, U.: Java project on periodontal diseases: the relationship between vitamin C and the severity of periodontitis. *J Clin Periodontol.*, 34: 299-304, 2007.

179. Amarasena, N., Ogawa, H., Yoshihara, A., Hanada, N., Miyazaki, H.: Serum vitamin C-periodontal relationship in community-dwelling elderly Japanese. *J Clin Periodontol.*, 32: 93-97, 2005.

180. Wolf, G.: The discovery of the antioxidant function of vitamin E: the contribution of Henry A. Mattill. *J Nutr.*, 135(3): 363-366, 2005.

181. Herrera, E., Barbas, C.: Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem.*, 57(2): 43-56, 2001.

182. Chong-Han, K.: Dietary Lipophilic Antioxidants: Implications and Significance in the Aging Process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50: 931-937, 2010.

183. Schneider, C.: Chemistry and biology of vitamin E. *Mol Nutr Food Res.*, 49(1): 7-30, 2005.

184. Asman, B., Wijkander, P., Hjerpe, A.: Reduction of collagen degradation in experimental granulation tissue by vitamin E and selenium. *J Clin Periodontol.*, 21(1): 45-47, 1994.

185. Tapiero, H., Townsend, D.M., Tew, K.D.: The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmacother.*, 58: 100-110, 2004.

186. Gerster, H.: The potential role of lycopene for human health. *J Am Coll Nutr.*, 16: 109-126, 1997.

187. Hennekens, C., Buring, J., Manson, J., Stampfer, M., Rosner, B., Belanger, C., LaMotte, F., Gaziano, J.M., Ridker, P.M., Willett, W., Petro, R.: Lack of effect of long-term supplementation with beta-carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med.*, 334: 1145-1149, 1996.

188. Grant, M.M., Brock, G.R., Matthews, J.B., Chapple, I.L.C.: Crevicular fluid glutathione levels in periodontitis and the effect of non-surgical therapy. *J Clin Periodontol.*, 37: 17-23, 2010.

189. Chapple, I.L.C., Brock, G., Eftimiadi, C., Matthews, J.B.: Glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *J Clin Pathol: Mol Pathol.*, 55: 367-373, 2002.

190. Chapple, I.L.C.: Role of free radicals and antioxidants in the pathogenesis of the inflammatory periodontal diseases. *J Clin Pathol: Mol Pathol.*, 49: 247-255, 1996.

191. Halliwell, B.: How to characterise biological antioxidants. *Free Radic Res Commun.*, 9: 1-31, 1990.

192. Beyer, C.E., Steketee, J.D., Saphier, D.: Antioxidant properties of melatonin-An emerging mystery. *Biochem Pharmacol.*, 56: 1265-1272, 1998.

193. Miura, T., Muraoka, S., Ogiso, T.: Adriamycin-induced lipid peroxidation of erythrocyte membranes in the presence of ferritin and the inhibitory effect of ceruloplasmin. *Biol Pharm Bull.*, 16(7): 664-667, 1993.

194. Adonogianaki, E., Moughal, N.A., Kinane, D.F.: Lactoferrin in the gingival crevice as a marker of polymorphonuclear leukocytes in periodontal diseases. *J Clin Periodontol.*, 20:26-31, 1993.

195. Theil, E.C.: Iron homeostasis and nutritional iron deficiency. *J Nutr.*, 141(4): 724-728, 2011.

196. Santamaria, L., Bianchi-Santamaria, A.: 1991. Free radicals as carcinogens and their quenchers as anticarcinogens. *Med Oncol Tumor Pharmacother.*, 8(3): 121-40, 1991.
197. Kusano, C., Ferrari, B.: Total Antioxidant Capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *J Cell Mol Biol.*, 7(1): 1-15, 2008.
198. Woodford, F.P., Whitehead, T.P.: Is measuring serum antioxidant capacity clinically useful? *Ann Clin Biochem.*, 35: 48-56, 1998.
199. Rice-Evans, C., Miller, N.J.: Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol.*, 234: 279-293, 1994.
200. Sanz, M., van Winkelhoff, A.J., Working Group 1 of Seventh European Workshop on Periodontology.: Periodontal infections: understanding the complexity--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.*, 11: 3-6, 2011.
201. Takane, M., Sugano, N., Iwasaki, H., Iwano, Y., Shimizu, N., Ito, K.: New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. *J Periodontol.*, 73: 551-554, 2002.
202. Scully, D.V., Langley-Evans, S.C.: Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin Sci (Lond.)*, 105: 167-172, 2003.
203. Lamster, I.B., Novak, M.J.: Host Mediators in Gingival Crevicular Fluid: Implications for the Pathogenesis of Periodontal Disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 3(1/2): 31-60, 1992.
204. Segal, A.W.: How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.*, 23: 197-223, 2005.
205. Ozçaka, O., Bicakci, N., Pussinen, P., Sorsa, T., Kose, T., Buduneli, N.: Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. *Oral Dis.*, 17: 68-76, 2011.

- 206.** Geraghty, P., Rogan, M.P., Greene, C.M., Boxio, R.M., Poiriert, T., O'Mahony, M., Belaaouaj, A., O'Neill, S.J., Taggart, C.C., McElvaney, N.G.: Neutrophil elastase up-regulates cathepsin B and matrix metalloproteinase-2 expression. *J Immunol.*, 178: 5871-5878, 2007.
- 207.** Weinberg, E.D.: The therapeutic potential of lactoferrin. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 12: 841-851, 2003.
- 208.** Nussbaum, G., Shapira, L.: How has neutrophil research improved our understanding of periodontal pathogenesis? *J Clin Periodontol.*, 38 (11): 49-59, 2011.
- 209.** Kettle, A.J., Anderson, R.F., Hampton, M.B., Winterbourn, C.C.: Reactions of superoxide with myeloperoxidase. *Biochem.*, 46(16): 4888-4897, 2007.
- 210.** Behle, J.H., Sedaghatfar, M.H., Demmer, R.T., Wolf, D.L., Celenti, R., Keschull, M., Belusko, P.B., Herrera-Abreu, M., Lalla, E., Papapanou, P.N.: Heterogeneity of systemic inflammatory responses to periodontal therapy. *J Clin Periodontol.*, 36: 287-294, 2009.
- 211.** Dias, I.H.K., Matthews, J.B., Chapple, I.L.C., Wright, H.J., Dunston, C.R., Griffiths, H.R.: Activation of the neutrophil respiratory burst by plasma from periodontitis patients is mediated by pro-inflammatory cytokines. *J Clin Periodontol.*, 38: 1-7, 2011.
- 212.** Matthews, J.B., Wright, H.J., Roberts, A., Ling-Mountford, N., Cooper, P.R., Chapple I.L.C.: Neutrophil Hyper-responsiveness in Periodontitis. *J Dent Res.*, 86(8): 718-722, 2007.
- 213.** Matthews, J.B., Wright, H.J., Roberts, A., Cooper, P.R., Chapple, I.L.C.: Hyperactivity and reactivity of peripheral blood neutrophils in chronic periodontitis. *Clin Exp Immunol.*, 147: 255-264, 2007.

- 214.** Celec, P., Hodosy, J., Celecova, V., Vodrazka, J., Cervenka, T., Halcak, L., Bozek, P., Kopani, M., Kudela, M.: Salivary thiobarbituric acid reacting substances and malondialdehyde—their relationship to reported smoking and to parodontal status described by the papillary bleeding index. *Dis Markers*, 21: 133-137, 2005.
- 215.** Marton, I.J., Balla, G., Hegedus, C., Redi, P., Szilagyi, Z., Karmazsin, L., Kiss, C.: The role of reactive oxygen intermediates in the pathogenesis of chronic apical periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 8: 254-257, 1993.
- 216.** Mashayekhi, F., Aghahoseini, F., Rezaie, A., Zamani, M.J., Khorasani, R., Abdollahi, M.: Alteration of cyclic nucleotides levels and oxidative stress in saliva of human subjects with periodontitis. *J Contemp Dent Pract.*, 6: 46-53, 2005.
- 217.** Sobaniec, H., Sobaniec-Lotowska, M.E.: Morphological examinations of hard tissues of periodontium and evaluation of selected processes of lipid peroxidation in blood serum of rats in the course of experimental periodontitis. *Med Sci Monit.*, 6: 875-881, 2000.
- 218.** Sheikhi, M., Bouhafis, R.K., Hammarstrom, K.J., Jarstrand, C.: Lipid peroxidation caused by oxygen radicals from *Fusobacterium*-stimulated neutrophils as a possible model for the emergence of periodontitis. *Oral Dis.*, 7: 41-46, 2001.
- 219.** Tuter, G., Kurtis, B., Serdar, M.: Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J. Periodontol.*, 72: 883-888, 2001.
- 220.** Abou Sulaiman, A.E., Shehadeh, R.M.: Assessment of total antioxidant capacity and the use of vitamin C in the treatment of non-smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol.*, 81(11): 1547-1554, 2010.
- 221.** Buduneli, N., Larsson, L., Biyikoglu, B., Renaud, D.E., Bagaitkar, J., Scott, D.A.: Fatty Acid Profiles in Smokers with Chronic Periodontitis. *J Dent Res.*, 90(1): 47-52, 2011.
- 222.** Mullally, B.H.: The influence of tobacco smoking on the onset of periodontitis in young persons. *Tob Induc Dis.*, 2: 53-65, 2004.

- 223.** Baljoon, M.: Tobacco smoking and vertical periodontal bone loss. *Swed Dent J Suppl.*, 174: 1-62, 2005.
- 224.** Haber, J.: Smoking is a major risk factor for periodontitis. *Curr Opin Periodontol.*, 12-18, 1994.
- 225.** Stoltenberg, J.L., Osborn, J.B., Pihlstrom, B.L., Herzberg, M.C., Aeppli, D.M., Wolff, L. E., Eischer, G.E.: Association between cigarette smoking, bacterial pathogens, and periodontal status. *J Periodontol.*, 64: 1225-1230, 1993.
- 226.** Haffajee, A.D., Socransky, S.S.: Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J Clin Periodontol.*, 28: 283-295, 2001.
- 227.** Liu, Y.F., Wu, L.A., Wang, J., Wen, L.Y., Wang, X.J.: Micro-computerized tomography analysis of alveolar bone loss in ligature- and nicotine-induced experimental periodontitis in rats. *J Periodont Res.*, 45: 714-719, 2010.
- 228.** Martinez-Caunt, P., Lorca, A., Magan, R.: Smoking and periodontal disease severity. *J Clin Periodontol.*, 22: 743-749, 1995.
- 229.** Pi, S.H., Jeong, G.S., Oh, H.W., Kim, Y.S., Pae, H.O., Chung, H.T., Lee, S.K., Kim, E.C.: Heme oxygenase-1 mediates nicotine- and lipopolysaccharide-induced expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in human periodontal ligament cells. *J Periodont Res.*, 45: 177-183, 2010.
- 230.** Mager, D.L., Haffajee, A.D., Socransky, S.S.: The effects of periodontitis and smoking on the microbiota of oral mucous membranes and saliva in systemically healthy subjects. *J Clin Periodontol.*, 30: 1031-1037, 2003.
- 231.** Cogo, K., Calvia, B.M., Mariano, F.S., Franco, G.C.N., Goncalves, R.B., Groppo, F.C.: The effects of nicotine and cotinine on *Porphyromonas gingivalis* colonisation of epithelial cells. *Arch Oral Biol.*, 54: 1061-1067, 2009.

- 232.** Graswinckel, J.E.M., van der Velden, U., van Winkelhoff, A.J., Hoek, F.J., Loos, B.G.: Plasma antibody levels in periodontitis patients and controls. *J Clin Periodontol.*, 31: 562-568, 2004.
- 233.** Giannopoulou, C., Kamma, J.J., Mombelli, A.: Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol.*, 30: 145-153, 2003.
- 234.** Rehani, K., Scott, D.A., Renaud, D., Hamza, H., Williams, L.R., Wang, H., Martin, M.: Cotinine-induced convergence of the cholinergic and PI3 kinase-dependent anti-inflammatory pathways in innate immune cells. *Biochim Biophys Acta.*, 1783: 375-382, 2008.
- 235.** Bagaitkar, J., Williams, L.R., Renaud, D.E., Bemakanakere, M.R., Martin, M., Scott, D.A., Demuth, D.R.: Tobacco-induced alterations to *Porphyromonas gingivalis*-host interactions. *Environ Microbiol.*, 11(5): 1242-1253, 2009.
- 236.** Ryder, M.I., Saghizadeh, M., Ding, Y., Nguyen, N., Soskolne, A.: Effects of tobacco smoke on the secretion of interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta from peripheral blood mononuclear cells. *Oral Microbiol Immunol.*, 17(6): 331-336, 2002.
- 237.** Ryder, M.I.: The influence of smoking on host responses in periodontal infections. *Periodontol 2000*, 43: 267-277, 2007.
- 238.** Grossi, S.G., Zambon, J., Machtei, E.E., Schifferle, R., Andreana, S., Genco, R.J., Cummins, D., Harrap, G.: Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. *J Am Dent Assoc.*, 128: 599-607, 1997.
- 239.** Bergström, J.: Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease. *Odontology*, 92: 1-8, 2004.
- 240.** Trombelli, L., Cho, K.S., Kim, C.K., Scapoli, S., Scabbia, A.: Impaired healing response of periodontal furcation defects following flap debridement surgery in smokers. A controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.*, 30: 81-87, 2003.

241. Mızrak, T., Kaya, F.A.: Sigara Kullanımının Periodontal Dokular Üzerine Olan Etkisi. *Dicle Tıp Dergisi*, 32(2): 102-107, 2005.
242. Weiner, D., Khankin, E.V., Levy, Y., Reznick, A.Z.: Effects of cigarette smoke borne reactive nitrogen species on salivary alpha-amylase activity and protein modifications. *J Physiol Pharmacol.*, 5: 127-132, 2009.
243. Yeh, C.C., Graham Barr, R., Powell, C.A., Mesia-Vela, S., Wang, Y., Hamade, N.K., Austin, J.H., Santella, R.M.: No effect of cigarette smoking dose on oxidized plasma proteins. *Environ Res.*, 106(2): 219-225, 2008.
244. Newman, M.B., Arendash, G.W., Shytle, R.D., Bickford, P.C., Tighe, T., Sanberg, P.R.: Nicotine's oxidative and antioxidant properties in CNS. *Life Sci.*, 71(24): 2807-2820, 2002.
245. Ashakumary, L., Vijayammal, P.L.: Effect of nicotine on lipoprotein metabolism in rats. *Lipids.*, 32(3): 311-315, 1997.
246. Dubick, M.A., Keen, C.L.: Influence of nicotine on tissue trace element concentrations and tissue antioxidant defense. *Biol Trace Elem Res.*, 31(2): 97-109, 1991.
247. Guan, Z.Z., Yu, W.F., Nordberg, A.: Dual effects of nicotine on oxidative stress and neuroprotection in PC12 cells. *Neurochem Int.*, 43(3): 243-249, 2003.
248. Park, S.Y., Baik, Y.H., Cho, J.H., Kim, S., Lee, K.S., Han, J.S.: Inhibition of lipopolysaccharide- induced nitric oxide synthesis by nicotine through S6K1-p42/44 MAPK pathway and STAT3 (Ser 727) phosphorylation in Raw 264.7 cells. *Cytokine.*, 44: 126-134, 2008.
249. Yoshikawa, H., Kurokawa, M., Ozaki, N., Nara, K., Atou, K., Takada, E., Kamochi, H., Suzuki, N.: Nicotine inhibits the production of proinflammatory mediators in human monocytes by suppression of I-kappaB phosphorylation and nuclear factorkappaB transcriptional activity through nicotinic acetylcholine receptor alpha7. *Clin Exp Immunol.*, 146: 116-123, 2006.

- 250.** Soto-Otero, R., Mendez-Alvarez, E., Hermida-Ameijeiras, A., Lopez-Real, A.M., Labandeira-Garcia, J.L.: Effects of (-)-nicotine and (-)-cotinine on 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress and neurotoxicity: relevance for Parkinson's disease. *Biochem Pharmacol.*, 64: 125-135, 2002.
- 251.** Crowley-Weber, C.L., Dvorakova, K., Crowley, C., Bernstein, H., Bernstein, C., Garewal, H., Payne, C.M.: Nicotine increases oxidative stress, activates NF-kappaB and GRP78, induces apoptosis and sensitizes cells to genotoxic/xenobiotic stresses by a multiple stress inducer, deoxycholate: relevance to colon carcinogenesis. *Chem Biol Interact.*, 145(1): 53-66, 2003.
- 252.** Istavan, J.A., Nides, M.A., Buist, A.S., Green, P., Voelker, H.: Salivary cotinine, frequency of cigarette smoking, and body mass index: findings at baseline in the lung health study. *American Journal of Epidemiology.*, 139: 628-636, 1994.
- 253.** Løe, H., Silness, J.: Periodontal diseases in pregnancy. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.*, 21: 533-551, 1963.
- 254.** Ainamo, J., Bay, I.: Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.*, 25: 229-235, 1975.
- 255.** Løe, H.: The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *J Clin Periodontol.*, 38: 61-70, 1967.
- 256.** Machacek, D.A., Jiang, N.S.: Quantification of cotinine in plasma and saliva by liquid chromatography. *Clin Chem.*, 32(6): 979-982, 1986.
- 257.** Erel O.: Novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.*, 37: 112-119, 2004.
- 258.** Yagi K.: Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. *Methods Mol Biol.*, 108: 101-106, 1998.

- 259.** Young, I.S., Trimble, E.R.: Measurement of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *Ann Clin Biochem.*, 28: 504-508, 1991.
- 260.** D'Aiuto, F., Nibali, L., Parkar, M., Patel, K., Suvan, J., Donos, N.: Oxidative Stress, Systemic Inflammation, and Severe Periodontitis. *J Dent Res.*, 89(11): 1241-1246, 2010.
- 261.** Pavlica, Z., Petelin, M., Nemec, A., Erzen, D., Skaleric, U.: Measurement of total antioxidant capacity in gingival crevicular fluid and serum in dogs with periodontal disease. *Am J Vet Res.*, 65: 1584-1588, 2004.
- 262.** Ellis, S.D., Tucci, M.A., Serio, F.G., Johnson, R.B.: Factors for progression of periodontal diseases. *J Oral Pathol Med.*, 27: 101-105, 1998.
- 263.** Akalın, F.A., Işıksal, E., Baltacıoğlu, E., Renda, N., Karabulut, E.: Superoxide dismutase activity in gingiva in type-2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis. *Arc Oral Biol.*, 53: 44-52, 2008.
- 264.** Antwerpen, L.V., Theron, A.J., Myer, M.S., Richards, G.A., Wolmarans, L., Booyesen, U.: Cigarette smoke-mediated oxidant stress, phagocytes, vitamin C, vitamin E and tissue injury. *Ann NY Acad Sci USA*, 686: 53-65, 1993.
- 265.** Chow, C.K., Thacker, R., Bridges, R.B., Rehm, S.R., Humble, J., Turbek, J.: Lower levels of vitamin C and carotenes in plasma of cigarette smokers. *J Am Coll Nutr.*, 5: 305-312, 1986.
- 266.** Pryor, W.: Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environmental Health Perspectives*, 105: 875-882, 1997.
- 267.** Lykkesfeldt, J., Loft, S., Nielsen, J.B., Poulsen, H.E.: Ascorbic acid and dehydroascorbic acid as biomarkers of oxidative stress caused by smoking. *Am J Clin Nutr.*, 65: 959-963, 1997.

- 268.** Ulvik, A., Ebbing, M., Hustad, S., Midttun, Ø., Nygard, O., Vollset, S.E., Bønaa, K.H., Nordrehaug, J.E., Nilsen, D.W., Schirmer, H., Ueland, P.M.: Long- and short-term effects of tobacco smoking on circulating concentrations of B vitamins. *Clin Chem.*, 56(5): 755-763, 2010.
- 269.** Toth, K.M., Berger, E.M., Buhler, C.J., Repine, J.E.: Erythrocytes from cigarette smokers contain more glutathione and catalase and protect endothelial cells from hydrogen peroxide better than do erythrocytes from nonsmokers. *Am Rev Respir Dis.*, 134: 281-284, 1986.
- 270.** Zappacosta, B., Persichilli, S., De Sole, P., Mordente, A., Giardina, B.: Effect of smoking one cigarette on antioxidant metabolites in the saliva of healthy smokers. *Arch Oral Biol.*, 44(6): 485-488, 1999.
- 271.** Passo, S.A., Syed, S.A., Silva, J. Jr.: (1982). Neutrophil chemiluminescence in response to *Fusobacterium nucleatum*. *J Periodont Res.*, 17: 604-613, 1982.
- 272.** Tomofuji, T., Sanbe, T., Ekuni, D., Azuma, T., Irie, K., Maruyama, T., Tamaki, N., Yamamoto, T.: Oxidative damage of rat liver induced by ligature-induced periodontitis and chronic ethanol consumption. *Arc Oral Biol.*, 2008.
- 273.** Ozturk, E., Balat, O., Gurcay Acılmış, Y., Ozcan, C., Pence, S., Erel, O.: Measurement of the placental total antioxidant status in preeclamptic women using a novel automated method. *J Obstet Gynaecol Res.*, 37: 337-342, 2011.
- 274.** Alp, R., Selek, S., Alp, S.I., Taşkin, A., Koçyiğit, A.: Oxidative and antioxidative balance in patients of migraine. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*, 14(10): 877-882, 2010.
- 275.** Sahin Kavakli, H., Erel, O., Delice, O., Gormez, G., Isikoglu, S., Tanriverdi, F.: Oxidative stress increases in carbon monoxide poisoning patients. *Hum Exp Toxicol.*, 2010.
- 276.** Yildiz, D., Ercal, N., Armstrong, D.W.: Nicotine enantiomers and oxidative stress. *Toxicology*, 130: 155-165, 1998.

- 277.** Wetscher, G.J., Bagchi, M., Bagchi, D., Perdakis, G., Hinder, P.R., Glaser, K., Hinder, R.A.: Free radical production in nicotine treated pancreatic tissue. *Free Radic Biol Med.*, 18(5): 877-882, 1995.
- 278.** Linert, W., Bridge, M.H., Huber, M., Bjugstad, K.B., Grossman, S., Arendash, G.W.: In vitro and in vivo studies investigating possible antioxidant actions of nicotine: relevance to Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Biochimica Biophysica Acta.*, 1454(2): 143-152, 1999.
- 279.** Gonzalez, Y.M., Nardin, A.D., Grossi, S.G., Machtei, E.E., Genco, R.J., De Nardin, E.: Serum Cotinine Levels, Smoking, and Periodontal Attachment Loss. *J Dent Res.*, 75: 796-802, 1996.
- 280.** Chen, X., Wolff, L., Aeppli, D., Guo, Z., Luan, W.M., Baelum, V., Fejeskov, O.: Cigarette smoking, salivary/gingival crevicular fluid cotinine and periodontal status. A 10-year longitudinal study. *J Clin Periodontol.*, 28: 331-339, 2001.

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	ROT üretim mekanizmaları	21
Tablo 2.2.	Fonksiyonlarına göre antioksidanların sınıflandırılması	30
Tablo 2.3.	Lokasyonlarına göre antioksidanların sınıflandırılması	31
Tablo 2.4.	Çözünübilirliklerine göre antioksidanların sınıflandırılması	31
Tablo 2.5.	Korudukları yapılara göre antioksidanların sınıflandırılması	31
Tablo 2.6.	Kaynaklarına göre antioksidanların sınıflandırılması	32
Tablo 3.1.	Serum MDA seviyesi ölçümü için reaksiyon karışımı	60
Tablo 4.1.	Gruplararası yaş dağılımları	63
Tablo 4.2.	Gruplararası cinsiyet dağılımları	63
Tablo 4.3.	Klinik parametrelerin, kronik periodontitisli [sigara kullanan (S+P+), sigara kullanmayan (S-P+)] ve periodontal olarak sağlıklı [sigara kullanan (S+P-), sigara kullanmayan (S-P-; kontrol)] gruplar arasında karşılaştırılması.	67
Tablo 4.4.	Serum laboratuvar parametrelerinin, kronik periodontitisli [sigara kullanan (S+P+), sigara kullanmayan (S-P+)] ve periodontal olarak sağlıklı [sigara kullanan (S+P-), sigara kullanmayan (S-P-; kontrol)] gruplar arasında karşılaştırılması.	68
Tablo 4.5.	Tükürük laboratuvar parametrelerinin, kronik periodontitisli [sigara kullanan (S+P+), sigara kullanmayan (S-P+)] ve periodontal olarak sağlıklı [sigara kullanan (S+P-), sigara kullanmayan (S-P-; kontrol)] gruplar arasında karşılaştırılması.	69
Tablo 4.6.	Sigara kullanan kronik periodontitisli (S+P+) grup ile sigara kullanan periodontal sağlıklı (S+P-) grubun tükürük kotinin konsantrasyonlarının karşılaştırılması.	72
Tablo 4.7.	Tüm bireyler için klinik parametreler ile serum ve tükürük TAOK, TOD, MDA, OSİ ve tükürük kotinin değerleri arasındaki korelasyonlar.	74
Tablo 4.8.	Tüm bireyler için serum ve tükürük TAOK, TOD, MDA, OSİ ve tükürük kotinin değerleri arasındaki korelasyonlar	75
Tablo 4.9.	S+P+ grubu için klinik parametreler ve laboratuvar parametrelerinin korelasyonları	76
Tablo 4.10.	S-P+ grubu için klinik parametreler ve laboratuvar parametrelerinin korelasyonları	76
Tablo 4.11.	S+P- grubu için klinik parametreler ve laboratuvar parametrelerinin korelasyonları	77
Tablo 4.12.	S-P- grubu için klinik parametreler ve laboratuvar parametrelerinin korelasyonları	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Periodontal Hastalık Mekanizması	6
Şekil 2.2.	Serbest Oksijen Radikali	12
Şekil 2.3.	Normal oksijen metabolizması sırasında ROT oluşumu	14
Şekil 2.4.	Singlet oksijen oluşumu	18
Şekil 2.5.	ROT oluşumu ve hücresel hasar	24
Şekil 2.6.	Malondialdehit	26
Şekil 2.7.	İndirgenmiş glutatyonun yapısı	37
Şekil 4.1.	Gruplararası yaş dağılımları	64
Şekil 4.2.	Gruplararası cinsiyet dağılımları	64
Şekil 4.3.	Tükürük ve serum TAOK konsantrasyonlarının gruplararası karşılaştırılması	70
Şekil 4.4.	Tükürük ve serum TOD konsantrasyonlarının gruplararası karşılaştırılması	70
Şekil 4.5.	Tükürük ve serum MDA konsantrasyonlarının gruplararası karşılaştırılması	71
Şekil 4.6.	Tükürük ve serum OSİ değerlerinin gruplararası karşılaştırılması	71
Şekil 4.7.	Tükürük kotinin konsantrasyonlarının S+P+ ve S+P- grupları arasında karşılaştırılması	72

ÖZGEÇMİŞ

Ad- Soyad: ÖZLEM SARAÇ ATAGÜN

Doğum Tarihi: 28.06.1983

Uyruğu: TC

Eğitimi:

- 24 Şubat İlkokulu (1989-1994)
- Trabzon Kanuni Anadolu Lisesi (1994- 1998)
- Trabzon Yomra Fen Lisesi (1998-2001)
- Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi (2001-2006)
- Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi
Periodontoloji AD araştırma görevlisi (2006-2011)
- Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi
Periodontoloji AD doktora öğrencisi (2007-2011)

Yabancı Dil: İngilizce

İletişim Adresi: Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi
Periodontoloji AD/TRABZON

Telefon: (0462) 3774777

E.mail: ozlemsarac2806@hotmail.com