



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**SİSTEMİK RETİNOİK ASİT KULLANIMININ DİŞETİ
ANTİMİKROBİYAL SAVUNMA MEKANİZMALARI ÜZERİNE
ETKİSİ**

SAADET NUR ATALAY

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. NUR AKBOYUN BALCI

İSTANBUL-2023

TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Doktora
Anabilim Dalı : Periodontoloji
Öğrenci : Saadet Nur Atalay
Tez Başlığı : Sistemik Retinoik Asit Kullanımının Dişeti Antimikrobiyal
Savunma Mekanizmaları Üzerine Etkisi
Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversitesi Unkapanı Yerleşkesi
Sınav Tarihi :
Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Kurumu

İmza

Doç. Dr. Nur Balcı

İstanbul Medipol Üniversitesi

Sınav Jüri Üyeleri

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun/....../..... tarih ve
...../.....-..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Neslin Emekli
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

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

Saadet Nur Atalay

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi, destek ve tecrübelerini paylaşmayı esirgemeyen, akademik yolculuğumda bana her zaman inanan ve güvenen, değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Nur Balcı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Değerli görüşleri ile bakış açımı genişleten, desteklerini esirgemeyen, hoş görüşü ve canayakınlığıyla hep yanımda hissettiğim, değerli hocam Prof. Dr. Hilal Toygar'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmamı ortak yürütme şansını bana tanıyan, Turku Üniversitesi'nde çalışmama imkan sağlayan, her türlü soru ve sorunumla sabırla ilgilenen çok kıymetli hocam Doç. Dr. Ulvi Kahraman Gürsoy'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dermatoloji Kliniği'nde desteklerini esirgemeyen, beni yüreklendiren değerli hocam Dr. Gürkan Yardımcı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Deney çalışmalarımnda her türlü bilgi ve desteğini seve seve paylaşan Katja Sampalahti ve Tatjana Peskova'a, Patoloji laboratuvarındaki destek ve ilgilerinden dolayı, Dr. Ayper Kaya ve Zeynep Yılmaz'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Doktora eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Tüm eğitim hayatım boyunca desteklerini üzerimden eksik etmeyen, her zaman benim için en iyisini düşünen, bugünlere gelmemdeki en büyük yardımcılarım biricik aile üyelerim Selma Atalay, Ahmet Atalay, Mustafa Atalay ve Nejla Melike Atalay'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	i
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI	ii
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
1.ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Periodonsiyum	6
4.1.1.Dişeti	6
4.1.1.1. Dişetin anatomik yapıları	7
4.1.1.1.1. Marjinal dişeti	7
4.1.1.1.2. Yapışık dişeti.....	7
4.1.1.1.3. İnterdental dişeti.....	8
4.1.1.2. Dişetin mikroskopik yapıları.....	8
4.1.1.2.1. Dişeti epiteli	9
4.1.1.2.2. Oral epitel.....	10
4.1.1.2.3. Sulküler epitel	11
4.1.1.2.4. Dişeti bağ dokusu.....	11
4.1.1.1. Dişeti epitelinin rolü ve periodontal sağlık	12
4.2. Periodontal Savunma Mekanizmaları	14
4.3. Antimikrobiyal Peptitler.....	15
4.3.1. Defensinler	16
4.3.1.1 .Alfa-defensinler (α -defensinler).....	17
4.3.1.1.1 .Alfa-defensinler ve periodonsiyum.....	18
4.3.1.2. Beta-defensinler (β -defensinler)	19
4.3.1.2.1. Beta-defensinlerin antibakteriyel aktiviteleri.....	19
4.3.1.2.2. Beta-defensinlerin immün düzenleyici aktiviteleri	20

4.3.1.2.3. Beta defensinler ve periodonsiyum	21
4.4. Vitaminler	22
4.4.1. Retinoik asit (Vitamin A).....	23
4.4.1.1. Retinoik asitin metabolizması	23
4.4.1.2. Retinoik asit ve nükleer reseptörler.....	24
4.4.1.2.1. Retinoik asit reseptörü (RAR).....	25
4.4.1.2.2. Retinoik x reseptörü (RXR)	25
4.4.1.3. Retinoik asit ve periodonsiyum.....	26
5. MATERYAL VE METOD	29
5.1. Hasta Seçimi ve Örneklem Büyüklüğü	29
5.2. Sosyodemografik Verilerin Toplanması ve Anket Formu	33
5.3. Klinik Periodontal Ölçümler	34
5.3.1. Sondalama cep derinliği (SCD)	35
5.3.2. Sondalamada kanama (SK)	35
5.3.3. Plak indeksi (PI).....	35
5.3.4. Atışman kaybı (AK)	36
5.4. Hasta Örneklerinin Toplanması	37
5.4.1. Tükürük örneklerinin toplanması.....	37
5.4.2. Serum örneklerinin toplanması	37
5.4.3. Dişeti biyopsilerinin alınması	37
5.5. Serum ve Tükürük Örneklerinin Biyokimyasal Analizleri	38
5.5.1. ELISA Yönteminin Uygulanması	39
5.5.1.1. Rekonstitüsyon ve Depolama.....	39
5.5.1.1.1. HBD-1 antikorlarının rekonstitüsyonu ve saklanması	39
5.5.1.1.2. HBD-2 antikorlarının rekonstitüsyonu ve saklanması	40
5.5.1.1.3. HBD-3 antikorlarının rekonstitüsyonu ve saklanması	40
5.5.1.2. ELISA Plakalarının Hazırlanması.....	41
5.5.2. Tükürük Örneklerinde Protein Tayini	45
5.5.3. Dişeti Örneklerinin İmmünohistokimyasal Analizi	46
5.5.4. İstatistiksel Analiz.....	48
6. BULGULAR	49
6.1. Sosyodemografik ve Periodontal Veriler	49

6.2. Serum HBD-1, -2, ve -3 Seviyeleri	52
6.3. Tükürük HBD-1, -2, ve -3 Seviyeleri.....	53
6.3. Dişeti hBD-1,-2, ve -3 Seviyeleri.....	57
7. TARTIŞMA	59
8. SONUÇ.....	65
9. KAYNAKLAR	66
10.EKLER.....	85
10.1. Gönüllü Onam Formları	85
11. ETİK KURUL ONAYI	88
12. ÖZGEÇMİŞ.....	92



KISALTMALAR LİSTESİ

AK: Klinik ataşman kaybı

AMP: Antimikrobiyal peptit

AP-1: Aktivatör protein-1

Arg: Arjinin

ATRA: All-trans retinoik asit

CD4+: Yardımcı T hücreleri

CD8+: Sitotoksik T hücreleri

c-Fos: Protein c-Fos

c-Jun: Transkripsiyon faktörü Jun

CRABP: Hücrel retinoik asit bağlayıcı proteinler

DÇ: Dişeti çekilmesi

ELISA: Enzim bağımlı immünosorbent analiz

hBD: İnsan beta defensin

hCAP18: İnsan katyonik antimikrobiyal peptit 18

HE: Hematoksilen-Eozin

HNP: İnsan nötrofil peptiti

IL: İnterlökin

INF: İnterferon

LL-37: Katelisinler

Lys: Lizin

MMP: Matriks metalloproteinaz

Pİ: Plak indeksi

PMA: Phorbol 12-miristat 13-asetat

RA: Retinoik asitler

RAR: Retinoik asit reseptörü

RARE: Spesifik retinoik asit tepki elemanları

RPM: Bir dakikadaki devir sayısı

RXR: Retinoid X reseptörü

SCD: Sondlanan cep derinliği

SKİ: Sondalamada kanama indeksi

TLR: Toll benzeri reseptör

TNF- α : Tümör nekroz faktörü alfa



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 6.1: Sosyodemografik ve periodontal veriler51

Tablo 6.2 : Retinoik asit ve kontrol grupları arasında tükürük hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'ün ayarlanmamış ve ayarlanmış (%SKİ) farklılıkları56



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1: Dişetin anatomik bölgeleri.....	7
Şekil 4.2: Problemin tanımı.....	28
Şekil 5.1: Retinoik asit grubuna ait dahil edilme, hariç tutulma kriterleri.....	31
Şekil 5.2: Kontrol grubuna ait dahil edilme, hariç tutulma kriterleri.....	32
Şekil 5.3: Sosyodemografik veri anketi.....	33
Şekil 5.4: Periodontal indeks formu.....	34
Şekil 6.1: Retinoik asit ve kontrol grubu serum hBD-1,2 ve -3 konsantrasyonları.....	52
Şekil 6.2: Retinoik asit ve kontrol grubu tükürük hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 konsantrasyonları.....	54
Şekil 6.3: Retinoik asit ve kontrol grubuna ait toplam tükürük protein miktarına orantılanmış tükürük hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 konsantrasyonları.....	55
Şekil 6.4: Kontrol ve retinoik asit gruplarında dişeti doku örneklerinde hBD-1, hBD-2, ve hBD-3 boyanma yoğunlukları.....	58

1.ÖZET

SİSTEMİK RETİNOİK ASİT KULLANIMININ DİŞETİ ANTİMİKROBİYAL SAVUNMA MEKANİZMALARI ÜZERİNE ETKİSİ

Retinoik asit, A vitamininin aktif bir türevidir ve insan hücrelerinin farklılaşmasını, çoğalmasını ve antimikrobiyal peptit ekspresyon profillerini düzenlemektedir. Bu çalışmanın amacı, sistemik retinoik asit kullanımının insan β -defensin (hBD)-1, hBD-2 ve hBD-3'ün serum, tükürük ve dişeti dokusu düzeylerine etkisini analiz etmektir. Bu çalışmaya toplam 69 hasta (34 sistemik retinoik asit kullanıcısı ve 35 sağlıklı kontrol) dahil edilmiştir. Plak indeksi (Pİ), sondlanan cep derinliği (SCD) ve sondalamada kanama indeksi (SKİ) ölçülmüştür. Tükürük ve serum hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 seviyeleri, ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Dişeti hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 seviyeleri immünohistokimya ile belirlenmiştir. hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'ün düzeltilmiş karşılaştırmalarında tek değişkenli genel doğrusal model kullanılmıştır. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sistemik retinoik asit kullanıcılarında, kontrollere kıyasla hBD-2'nin tükürük seviyesinde azalma ($p=0.042$) saptanırken, hBD-1 veya hBD-3 seviyesinde fark saptanmadı. Retinoik asit ve kontrol grupları arasında düzeltilmiş (%SKİ) tükürük hBD-2 konsantrasyonlarında anlamlı bir fark bulundu ($p=0.031$). İki çalışma grubu arasında hBD-1, hBD-2 veya hBD-3'ün serum veya doku seviyelerinde fark gözlenmedi. Sistemik retinoik asit kullanımı, dişeti iltihabından bağımsız olarak baskılanmış tükürük hBD-2 seviyeleri ile ilişkilidir.

Anahtar Kelimeler: Beta-defensinler, diş eti, retinoidler, serum, tükürük

2. ABSTRACT

THE EFFECT OF SYSTEMIC RETINOIC ACID USE ON PERIODONTAL ANTIMICROBIAL DEFENSE MECHANISM

Retinoic acid is an active derivative of vitamin A and regulates the differentiation, proliferation and antimicrobial peptide expression profiles of human cells. The aim of the present study was to analyze the effect of systemic retinoic acid use on serum, saliva and gingival tissue levels of human β -defensin (hBD)-1, hBD-2, and hBD-3. A total of sixty-nine patients (34 systemic retinoic acid users and 35 healthy controls) were enrolled in this study. Plaque index (PI), probing pocket depth (PPD), bleeding on probing (BOP) and body mass index (BMI) were measured. Saliva and serum hBD-1, hBD-2 and hBD-3 levels were quantified by enzyme-linked immunosorbent assay. Gingival tissue hBD-1, hBD-2 and hBD-3 levels were determined by immunohistochemistry. Univariate general linear model was used in adjusted comparisons of hBD1, hBD-2 and hBD-3. A p value of < 0.05 was considered statistically significant. Reduced salivary levels of hBD-2 ($p=0.042$), but not hBD-1 or hBD-3, were detected in systemic retinoic acid users compared to non-user controls. There was a significant difference in the adjusted (BOP%) salivary hBD-2 concentrations between retinoic acid and control groups ($p=0.031$). No difference was observed in serum or tissue levels of hBD-1, hBD-2, or hBD-3 between two study groups. Systemic retinoic acid use associates with suppressed salivary hBD-2 levels, which is independent of the gingival inflammation.

Key Words: Beta-defensins, gingiva, retinoids, saliva, serum

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağız boşluğu, sert dokuların dışarıya açıldığı, hem komensal hem de patojenik bakteriler içeren bir ortamdır (1). Oral epitel, periodontal dokular ile dış ortam arasında bir bariyer oluşturmaktadır. Ayrıca, periodonsiyumu çevresel streslerden, kimyasal hasarlardan ve bakteriyel enfeksiyonlardan korumaya hizmet etmektedir (2). Dış eti epiteli, plak bakterileri ve konak arasındaki ilk etkileşimlerin gerçekleştiği bölge olmasının yanında, mikrobiyal patojenlerin istilasına maruz kalmasından dolayı konak savunmasında anahtar rol oynamaktadır (3). Dış eti epiteli, hücreler arasındaki sıkı bağlantılarla sert bir fiziksel bariyerin yanı sıra dış eti epitel hücrelerinden sentezlenen antimikrobiyal peptitlerle kimyasal bir bariyer görevi de görmektedir (4). İnsan β -defensinleri (hBD'ler), gingival keratinositler tarafından yaygın olarak eksprese edilen, periodontal dokulardaki en yaygın antimikrobiyal peptitlerdir. Bu antimikrobiyal peptitler, sağlıkta simbiyotik konak-bakteri etkileşimlerinin ve epitelyal yenilenmenin sürdürülmesinde önemli roller oynar ve periodontal enflamasyonun başlamasıyla T hücreleri için kemoatraktan olarak hareket etmektedir (5). Deneysel gingivitis oluşturulan bir çalışmada dişeti seviyesindeki insan beta defensin (hBD-1, -2, -3, ve -4) seviyeleri incelendiğinde hBD-2 ve -3'ün gingival enflamasyonun 14. gününde en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür (6). Dendritik hücrelerle yapılan bir in-vitro çalışmada, *Porphyromonas gingivalis* hemagglutinin B (HagB) 'nin dendritik hücrelerde matriks metalloproteinaz uyarıcı olduğu tespit edilmiştir. hBD-3'ün, dendritik hücrelerde HagB ile indüklenen MMP-1, 7 ve 9 yanıtlarını değiştirdiği bulunmuştur (7).

Vitaminler beslenmenin temel bileşenleridir ve çeşitli biyolojik süreçlerin sürdürülmesi için gerekmektedir. A vitamini, aktif metaboliti olan retinoik asit aracılığıyla, embriyonik gelişim, hormon işlevi, immün cevabın sürdürülmesi ve düzenlenmesi, epitel ve mukozanın homeostazı gibi çeşitli biyolojik koşullarda etki etmektedir (8, 9). Akne, rozasea, liken planus, psoriasis gibi hastalıkların tedavisinde lokal ve sistemik olarak kullanılan retinoidlerin epitel tamirinde, kollajen sentezinde, anjiyogenezde ve yara iyileşmesindeki stimüle edici etkileri gözlemlenmiştir (10).

Araştırmalar, A vitamini eksikliği ile kronik periodontitis mevcudiyeti arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir. Kronik periodontitisin, genç yetişkin Koreli kadınlarda daha düşük A vitamini alımı ile marjinal olarak ilişkili olduğu saptanmıştır (11). Farelerde oluşturulmuş *Porphyrromonas gingivalis* kaynaklı periodontitis modelinde retinoik asidin her gün oral yoldan takviyesinin, enflamatuar hücre infiltrasyonunu inhibe ettiği, düzenleyici T hücrelerinin aktivasyonunu arttırdığı ve gelişebilecek alveolar kemik kaybının önüne geçtiği gösterilmiştir (12). Bununla birlikte ilginç bir şekilde, son zamanlarda retinolün, retinol bazlı periodontal rejeneratif tedavilerde yeni bir kapsamının yolunu açabilecek bir özellik olan nükleer bazların metil grubunun kaybetme (Demetilasyon) yoluyla hücresel epigenetiği etkileme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (13). A vitaminin aktif bir formu olan All-trans retinoik asit (ATRA), kalsiyum (Ca^{+2}), *Pseudomonas aeruginosa* ve NK-aktivatörü olarak bilinen phorbol 12-miristat 13-asetat (PMA) ile uyarılmış deri kaynaklı keratinositlerin, insan beta defensinlerinin gen indüksiyonu üzerine etkisini araştıran bir in vitro çalışmada, keratinositlerin tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin 1-beta (IL-1 β), interferon gamma (INF- γ), PMA ve *Pseudomonas aeruginosa* aracılığıyla sentezlediği hBD-2, -3, ve -4'ün ATRA ile azaldığı görülmüştür (14).

Her ne kadar retinoik asitin dişeti epiteli ve oral keratinositlere olan etkisi in-vitro çalışmalarla (15-17) incelenmiş ve periodontal enflamasyondaki (12) ve yara iyileşmesindeki (18) etkileri hayvan çalışmalarıyla araştırılmış olsa da, bilgilerimiz dahilinde retinoik asitin oral kavitedeki olası etkileri klinik olarak araştırılmamıştır. Bu nedenle bu tezin amacı retinoik asitlerin dişeti sağlığı üzerindeki etkilerini beta defensinler açısından ve retinoik asit-dişeti ilişkisini olası enflamatuar etkileşimler açısından değerlendirmektir. Planlanan çalışmanın hipotezi retinoik asitin dişetinde beta defensinlerin salınımını etkileyerek enflamatuar cevabı baskıladığı, dolayısıyla dişeti sağlığını pozitif yönde etkileyeceğidir. Yapılan literatür taramasında retinoik asitlerin dişetindeki enflamatuar cevaba olan etkisinin beta defensinler üzerinden gösterildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu açıdan planlanan çalışma özgün değer taşımaktadır. Çalışma sonunda elde edilen bulgularla retinoik asitin periodontal

dokulara olan etkisi ve periodontal enflamasyonda görevi hala net olarak belirlenemeyen beta defensinlerin rolünün aydınlatılması hedeflenmiştir.



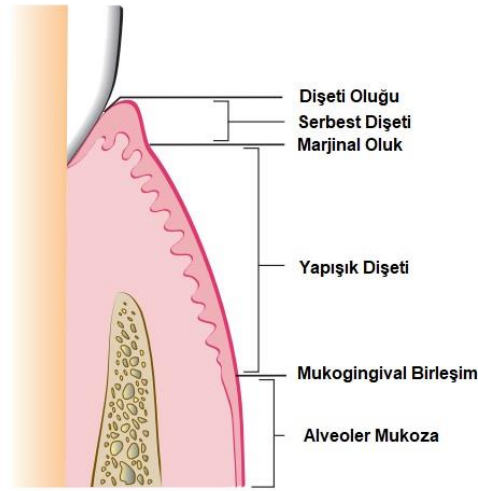
4. GENEL BİLGİLER

4.1. Periodonsiyum

Periodonsiyum, dişlerin ağız içindeki işlevlerini gerçekleştirebilmesi için gerekli desteği sağlayan, diş ve etrafındaki dokuları ifade etmektedir. Dört ana bileşenden oluşmaktadır: dişeti, periodontal ligament, sementum ve alveoler kemik. Bu periodontal bileşenlerin her biri konumu, doku mimarisi, biyokimyasal bileşim ve kimyasal bileşimleri açısından farklıdır, ancak bu bileşenlerin tümü tek bir bütün olarak birlikte uyum içinde çalışmaktadır (3).

4.1.1. Dişeti

Dişeti, klinik olarak mercan pembesi renge sahip, çevreledikleri dişlerin konturuna uygun olarak bıçak sırtı şeklinde sonlanan, kurutulduğunda yüzeyinde stripping adı verilen portakal kabuğu görünümüne sahip sıkı ve dirençli periodontal bir dokudur. Dişeti anatomik olarak marjinal, yapışık ve interdental bölgelere ayrılmaktadır (Şekil 4.1). Her dişeti tipi, işlevlerine göre histolojilerinde ve kalınlıklarında önemli farklılıklar gösterse de, mekanik ve mikrobiyal hasara karşı uygun şekilde işlev görecektir şekilde özel olarak yapılanmaktadır (3).



Şekil.4.1: Dişetin anatomik bölgeleri(3)

4.1.1.1. Dişetin anatomik yapıları

4.1.1.1.1. Marjinal dişeti

Marjinal veya bağlanmamış dişeti, dişleri yaka gibi çevreleyen dişetin terminal kenarı veya sınırıdır. Marjinal dişeti, serbest dişeti oluğu adı verilen sığ bir çöküntü ve bitişindeki yapışık dişeti ile sınırlandırılmaktadır (3). Marjinal dişeti genellikle yaklaşık 1 mm genişliğindedir ve dişeti oluğunun yumuşak doku duvarını oluşturur. Bir periodontal sond ile diş yüzeyinden ayrılabilir (19).

4.1.1.1.2. Yapışık dişeti

Yapışık dişeti, marjinal dişetin devamı niteliğindedir. Sert yapıya sahiptir ve alveolar kemiğin altındaki periosteuma sıkıca bağlanmaktadır. Yapışık dişetin fasiyal yönü, alveolar mukozaya kadar uzanmakta ve mukogingival bileşim ile sınırlanmaktadır. Yapışık dişetin genişliği, mukogingival birleşim ile dişeti sulkusunun veya periodontal cebin apikal kısmının dış yüzeyindeki çıkıntı arasındaki

mesafedir. Yapışık diş etinin genişliği ağzın farklı bölgelerinde farklılık göstermektedir. Genellikle kesici dişler bölgesinde en genişken (Maksilla 3.5- 4.5 mm, 3.3-3.9 mm mandibula), arka bölgelere doğru (maksiller birinci premolar bölgesinde 1.9 mm, mandibular birinci premolar bölgesinde 1.8 mm) daralmaktadır (3).

4.1.1.1.3. İnterdental dişeti

İnterdental dişeti, dişlerin temas alanlarının apikalinde bulunan interproksimal boşluğu kaplamaktadır. İnterdental dişeti piramidal veya “col” şeklinde olabilmektedir (3). Piramidal dişeti, bir papillanın ucu, temas noktasının hemen altında bulunurken, “col” şeklindeki dişeti fasiyal ve lingual papillayı birbirine bağlayan ve interproksimal temasın şekline uyan vadi benzeri bir çöküntü şeklindedir(20) . Belirli bir interdental boşlukta dişetinin şekli, bitişik dişler arasındaki temas noktasının varlığına veya yokluğuna, temas noktası ile kemik kreti arasındaki mesafeye ve dişeti çekilmesinin varlığına veya yokluğuna bağlıdır (21). Fasiyal ve lingual yüzeyler interproksimal temas alanına doğru inceliklenirken, mezial ve distal yüzeyler hafif içbükeydir. İnterdental papillaların yan kenarları ve uçları, bitişik dişlerin marjinal dişeti tarafından oluşturulmaktadır. Aradaki kısım yapışık diş etinden oluşmaktadır. Dişler arasında diastema varsa, diş eti, interdental papilla olmaksızın pürüzsüz, yuvarlak bir yüzey oluşturmak için interdental kemik üzerine sıkıca bağlanmaktadır (3).

4.1.1.2. Dişetinin mikroskopik yapıları

Dişeti, mikroskopik özelliklerine göre dişeti epiteli ve dişeti bağ dokusu olarak ikiye ayrılmaktadır. Epitel, doğası gereği ağırlıklı olarak hücresel olmasına rağmen, bağ dokusu daha az hücre içermekte ve esas olarak kollajen liflerinden ve temel maddeden oluşmaktadır (3).

4.1.1.2.1. Dişeti epiteli

Dişeti epiteli, çok katlı skuamöz epitelden oluşmaktadır. Morfolojik ve fonksiyonel olarak üç farklı bölümden oluşmaktadır: oral epitel, sulkuler epitel ve birleşim epiteli. Dişeti epitelinin ana işlevi, ağız ortamında seçici geçirgenlik sağlayarak altında bulunan derin dokuları korumaktır (3).

Dişeti epitelinin temel hücre tipi keratinositlerdir. Epitelde bulunan diğer hücreler, Langerhans hücrelerini, Merkel hücrelerini ve melanositlerdir. Keratinositler epiteldeki hücre yoğunluğunun %90'ını oluşturmaktadır. Keratinositler, keratin ara filamanları ailesine (KIF) dahil olan ve boyları 8-15 nm uzunluğundaki protein yapılar içermektedir (22). Keratinizasyonu pekiştiren hücre-hücre bağlantıları sıvı kaybını önleyen ve potansiyel zararlı molekül ve organizmaların girişini engelleyen bir bariyer oluşturmaktadır (23). Keratin üretiminin yanında, uyarılara karşı salgıladıkları birçok sitokin ve kemokinlerle bakteriyel invazyon ve enfeksiyona karşı bariyer görevi görmektedirler (24). Keratinositler, eksojen uyarılara karşı sitokin, adezyon molekülleri ve antijenlerden bağımsız gelişen iltahaptan sorumlu kemotaktik faktörlerin salınımına neden olarak epitelde "sinyal dönüştürücüler" olarak hareket edebilmektedirler (25).

Keratinositlere ek olarak, dişeti epitelindeki toplam hücre popülasyonunun yaklaşık %10'unu oluşturan ve esas olarak spinöz ve bazal tabakalarda bulunan üç hücre tipi vardır: Langerhans hücreleri, Merkel hücreleri ve melanositler. Bu hücreler, ışık mikroskopları altında çevredeki keratinositlerden daha aydınlık göründükleri için "berrak hücreler" olarak da adlandırılmaktadır (3). Langerhans hücreleri, tipik dendritik hücre morfolojileri ve dişetinde mikrobiyal antijenlere karşı birincil bağışıklık tepkilerini başlatma kapasitesi ile karakterize edilen hücrelerdir (3). Kemik iliğindeki progenitör hücrelerden türemekte ve esas olarak dişeti epiteli, sulkular epitel ve birleşim epitelinin uzunluğu boyunca dikensi hücre tabakasında bulunmaktadır (26). Bu özelleşmiş hücrelerin, epitele nüfuz eden antijenleri işlediği ve erken immünolojik cevap başlatmak için antijene özgü T lenfositlerine antijen sunduğu öne

sürülmüştür (26). Langerhans hücreleri hem sağlıklı hem de periodontal hastalığa sahip dişeti epitelinde bulunmaktadır. Retiküloendotelyal system tarafından üretilen, dişetin antijenik özelliklere sahip makrofajları olarak kabul edilmektedirler (27). Keratinize epitelde daha yoğun bulunan Merkel hücreleri, yaptıkları dezmozomlar ve yapısında barındırdıkları sinir uçlarıyla, dokunsal (taktil) algılayıcılar olarak tanımlanmaktadır (3,28). Nöral krest hücrelerinden kaynak alan melanositler, elektromanyetik radyasyonun iyonlaştırıcı etkilerine karşı koruma sağlayan bir pigment olan melanin üretiminden sorumludur (29). Melanositler tipik olarak oral dişeti epitelinin bazal tabakasında gözlenir ve proliferasyonları ve farklılaşmaları bir dizi keratinosit kaynaklı faktör tarafından düzenlenmektedir (30).

4.1.1.2.2. Oral epitel

Oral epitel, marjinal diş etinin tepesini, oral kaviteye bakan dış yüzeyini ve yapışık diş etinin oral kaviteye bakan yüzeyini kaplamaktadır. Ortalama olarak, oral epitelin kalınlığı 0,2 ila 0,3 mm aralığındadır. Keratinize veya parakeratinize yapıda bulunmaktadır. Oral epitel dört katmandan oluşmaktadır: stratum bazale (bazal katman), stratum spinosum (dikenli hücre katmanı), stratum granulosum (granüler katman) ve stratum korneum (kornifiye katman) (3) .

Dış oral epiteldeki hücrelerin büyük çoğunluğunu, keratin filamentleri üretme yetenekleri ile karakterize olan keratinositler oluşturmaktadır (31). Küboidal veya kolumnar olan ve bazal membranla yakın temasta bulunan bazal tabakanın keratinositleri, alttaki yapıları korumaktan ve subepitelyal dokularla materyallerin alışverişinden sorumludur. Yenilenen epitel hücrelerinden oluşan bazal tabakaya, stratum germinativum da denmektedir. Normal koşullar altında, bazal hücre yenilenmesi ve yüzeydeki epitel hücrelerinin dökülmesi arasında bir denge bulunmaktadır. Epitelin orta katmanlarında bulunan dikenli hücreler epitelin en büyük hücreleri olmanın yanında çok yönlü farklılaşma özelliğine sahiptir. Yapısında bulunan bu dikensi hücrelerden dolayı bu tabakaya spinoz tabaka denmektedir.

Granüler tabakanın hücreleri ve kornifiye tabakanın hücreleri, uzun eksenleri epitel yüzeyine paralel olacak şekilde düzleşmiştir (32).

4.1.1.2.3. Sulküler epitel

Sulkular epitel dişeti oluşunu döşeyen, ince, keratinize olmayan çok katlı skuamöz epiteldir. Bağlantı epitelinin koronal sınırından marjinal dişetinin koronaline kadar uzanmaktadır.

Sulkular epitel son derece önemlidir; zararlı bakteri ürünlerinin içinden dişeti içine geçtiği ve içinden dişeti doku sıvısının sulkusa sızdığı yarı geçirgen bir zar görevi görmektedir (33). Bununla birlikte, birleşme epitelinin aksine, sulkular epitel polimorfonükleer nötrofil lökositler tarafından yoğun şekilde infiltre edilmez ve daha az geçirgen görünmektedir (3).

4.1.1.2.4. Dişeti bağ dokusu

Dişeti bağ dokusu, kollajen lifler (%60), fibroblastlar (%5), damarlar, sinirler ve matristen (%35) oluşmaktadır. Dişetin bağ dokusu lamina propria olarak bilinmekte ve iki katmandan oluşmaktadır: (1) Epitelyal rete pegler arasındaki papiller çıkıntılarda bulunan epitelin hemen altındaki papiller tabaka; ve (2) alveolar kemiğin periosteumu ile bitişik olan retiküler tabaka. Dişeti bağ dokusu, büyük ölçüde, oral mukoza bağ dokusundan kaynaklanan elementlere ve ayrıca gelişen diş folikülünden kaynaklanan bazı liflere(dentogingival lifler) sahip olan fibröz bir bağ dokusudur (34).

Lifler ve hücreler arasındaki boşluğu dolduran temel madde, yüksek su içeriğine sahiptir ve amorf yapı göstermektedir. Proteoglikanlar (esas olarak hyaluronik asit ve kondroitin sülfat) ve glikoproteinlerden (esas olarak fibronektin) oluşmaktadır. Glikoproteinler, temel maddenin zayıf periyodik asit-Schiff-pozitif reaksiyonundan

sorumludur. Fibronektin, fibroblastları liflere ve hücreler arası matrisin diğer birçok bileşenine bağlar, böylece hücre adezyonu ve göçüne aracılık etmeye yardımcı olmaktadır. Bazal laminada bulunan bir başka glikoprotein olan laminin, epitel hücrelerine adezyona hizmet etmektedir (3).

Kollajen, retiküler ve elastik olmak üzere üç tip bağ dokusu lifi bulunmaktadır. Kollajen tip I, lamina proprianın büyük kısmını oluşturur ve dişeti dokusuna çekme mukavemeti sağlamaktadır. Tip IV kolajen, kolajen tip I demetleri arasında dallanır ve bazal membran lifleri ve kan damarı duvarları ile bütünlük sağlamaktadır (35). Elastik lifler, kolajen arasında dağılmış oksitalan, elaunin ve elastin liflerinden oluşmaktadır. Bu nedenle, bağlantı epitelinin hemen altındaki aselüler ekstrinsik fiber semente sabitlenen yoğun şekilde paketlenmiş kollajen demetleri, bağ dokusu ekini oluşturmaktadır. Bu bağlanmanın stabilitesi, birleşme epitelinin migrasyonunun sınırlandırılmasında kilit bir faktördür (3).

4.1.1.1. Dişeti epitelinin rolü ve periodontal sağlık

Epitel bariyerinin bütünlüğü, hücre-hücre bağlantılarına saldıran ve böylece hücreleri birbirinden ayıran çeşitli mikrobiyal patojenler tarafından spesifik olarak bozulmaktadır. Bağırsak epitelinde E-cadherin'e etki eden *Listeria monocytogenes* (36) ve sıkı bağlantılara karşı etkinlik gösteren *Clostridium perfringens* (37), deride dezmozomların bütünlüğünü bozan *Staphylococcus aureus* (38) bu patojenlerden bazılarıdır. Periodontal hastalıktan sorumlu primer patojenlerden birisi olan *Porphyromonas gingivalis*'in de epiteldeki aktin hücre iskeletine etki etmesi bir çok dokuda olduğu gibi periodonsiyumda da epitel bariyerin önemine dikkat çekmektedir.

Epitelin bariyer etkisinin yanında diş eti sulkusunda bulunan hücrelerin yenilenme hızının yüksek olması periodontal sağlığı idamesinde önemli rol oynamaktadır (39). Bağlantı epiteli hücrelerinde 4 ile 6 gün arasında ve sulkuler epitel hücrelerinde 6 ile 12 gün arasında değişen hücresel yenilenme hızı, mikrobiyal

saldırıdan zarar gören hücrelerin ve doku bileşenlerinin hızlı bir şekilde değiştirilmesine izin verdiği için avantaj sağlamaktadır (40).

Bağlantı epitelinin sulküler epitelden daha geçirgen olmasından dolayı mikrobiyal saldırılara karşı, nötrofiller kemotaktik olarak bağ dokusundaki kan damarlarından bağlantı epitelindeki hücreler arası boşluklardan biyofilme doğru göç etmektedirler (41). Nötrofil göçüyle başlayan olaylar dizisi gingivitisin erken evrelerine yol açmaktadır. Gingivitis, dişeti ile sınırlı geri dönüşümlü bir enflamasyondur ve tedavi edilmediğinde periodontitise dönüşebilmektedir (42). Periodontitis, bağlantı epitelini istila eden biyofilmin hücre katmanlarını aşarak derin çatlak ve dolayısıyla dişeti cebi oluşturmasıyla başlamaktadır (43). Sonuç olarak, nötrofiller tarafından salınan proteolitik enzimler, epitel bariyerini bozmaktadır. Epitelin bütünlüğünün bozulması böylece patojenlerin ve ürünlerinin epitelyal hücreler ile lamina propria arasındaki boşluğa daha derin nüfuz etmesine izin vererek, proinflatuar sitokinlerin salınmasını tetikler ve doku yıkımını ve alveolar kemik rezorpsiyonunu başlatmaktadır (44).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) “Sağlık, yalnızca hastalık veya sakatlığın olmayışı değil, fiziksel, zihinsel ve sosyal yönden tam bir iyilik halidir” tanımına dayanarak, periodontal sağlığın bir sağlık durumu olarak tanımlanması gerektiği 2017 yılında yapılan, azalmış ve azalmamış periodonsiyumda periodontal sağlık ve dişeti hastalıkları ve durumları çalıştayında bildirilmiştir (45). Periodontal sağlık, anatomik olarak sağlam veya azalmış bir periodonsiyum üzerinde klinik periodontal enflamasyona dair herhangi bir bulgu göstermeme durumudur (45). Bu genel sağlık çerçevesine dayanarak, periodontal sağlıklı bireyler, gingivitis, periodontitis veya diğer periodontal durumlarla ilişkili hastalığa sahip olmayan ve başarılı bir şekilde tedavi edilen periodontal hastalık geçmişi olan hastaları içerebilmektedir. Bunlara ek olarak, klinik periodontal sağlık, periodontal homeostazı sağlayan biyolojik ve enflamatuar belirteçlerin denge içerisinde olmasını içeren fizyolojik immün durumu da kapsamaktadır (46).

4.2. Periodontal Savunma Mekanizmaları

Periodonsiyum, dişeti, dişeti bağ dokusu, periodontal ligament, sement ve alveolar kemikten oluşmaktadır. Periodontal patojenler, dişetin dişlere tutunduğu birleşim epitel yoluyla dokuyu istila etmektedirler. Bu nedenle, oral kavitenin doğuştan gelen bağışıklığında ilk savunma hattı, periodonsiyumun en dış tabakası olan ve oral bakterilerin ve diğer çevresel faktörlerin istilasına karşı fiziksel bir bariyer görevi gören diş eti epitelidir (47). Dişeti epitel sadece fiziksel bir bariyer olarak işlev görmeyip, aynı zamanda salgıladıkları antimikrobiyal peptitlerle kimyasal bir bariyer görevi de görmektedir (48). Dişeti epitelinin bariyer etkisine ek olarak ağız boşluğunda bulunan tükürük, immünoglobulin A, müsinler ve antimikrobiyal peptitler içererek kimyasal bir bariyer oluşturmaktadır (39).

Dişeti epitel hücreleri, fibroblastlar, nötrofiller, makrofajlar ve periodontal dokulardaki birçok hücre toll-benzeri reseptörler eksprese etmektedirler (49). Toll benzeri reseptörler mikroorganizmalarla karşılaştığında pro-enflamatuvar sitokinlerin ve adezyon faktörlerinin salınımını yukarı doğru regüle etmektedirler (50).

Periodontitis, ağız hijyeni eksikliği ve bakteriyel biyofilmlerin olgunlaşması ile başlayan, periodontal dokuların tahribatına ve diş kaybına neden olabilen enflamatuvar bir hastalıktır. Bakteri plağının mikroorganizmalarına ve ürünlerine karşı enflamatuvar konak yanıtı ile karakterizedir (51). Periodontal yıkımın patogenezi, öncelikle konak yanıtının koruyucu rolünü yansıtan, dokuları bakteriyel saldırılara karşı savunmayı amaçlayarak enflamatuvar yanıtın farklı bileşenlerinin sıralı aktivasyonunu içermektedir. Ancak aynı zamanda bu yıkımın aracısı olarak da hareket etmektedir (52).

Edinilmiş bağışıklık, tekrarlanan bakteriyel ataklara yanıt vermek için patojene özgü yanıtlara dayanmaktadır. Spesifik yabancı antijenleri tanıyan antikorlar, patojeni

ortadan kaldırmak için iltihap bölgesine hızlı bir yanıt oluşturmak üzere periodontal dokuyu lenfositler aracılığıyla uyarmaktadırlar (32).

Doğuştan gelen bağışıklık yanıtında ise, konak hücreleri, bakterileri hücre duvarlarında bulunan özelleşmiş reseptörler, makromoleküller ve nükleik asitler aracılığıyla hızla algılayarak enflamatuar yanıtı tetiklemektedir. Konak bağışıklığında cevabın oluşabilmesinde fagositik hücreler (nötrofiller, makrofajlar, dendritik hücreler gibi) ve antimikrobiyal moleküller (peptitler, lizozimler, lektinler ve komplemanlar gibi) önem taşımaktadır (32).

4.3. Antimikrobiyal Peptitler

Antimikrobiyal peptitler (AMP'ler), doğal antimikrobiyal aktivitelere sahip çeşitli son derece küçük proteinler içeren peptit grubudur. AMP'nin varlığı uzun yıllardır bilinmektedir, ancak yalnızca son zamanlarda memelilerin doğuştan gelen bağışıklığının temel efektörleri olarak kabul edilmektedir. Bu peptitler, doğal antibiyotikler olarak hareket ederek geniş bir bakteri, mantar ve virüs spektrumuna doğrudan etki eder ve lokal enflamatuar yanıtı değiştirmeye ve konakçı adaptif bağışıklığı etkinleştirmeye katılmaktadır (32). AMP'lerin mikroorganizmaları etkisiz hale getirdiği olası mekanizmalar şunları içermektedir: (I)Normal olarak enerji verilmiş bakteri zarının ölümle sonuçlanan depolarizasyonu; (II)Hücre içi içeriğin dışarı sızmasına neden olan hücre zarında fiziksel deliklerin oluşturulması; (III)Hücre duvarını bozan hidrolazların indüksiyonu; (IV)İki tabakalı yaprakçıklar arasında lipidlerin olağan dağılımının karıştırılması ve dolayısıyla zar fonksiyonlarının bozulmasına; ve (V)Peptidin içselleştirilmesinden (internalisation) sonra kritik hücre içi hedeflere zarar verilmesi (53).

Dişeti epitel, yalnızca mikrobiyal istilayı fiziksel olarak önleyen bariyer işleviyle değil, aynı zamanda varsayılan patojenlerin yayılmasını biyolojik olarak baskılayan antimikrobiyal özellikleriyle temsil edilen konak savunmasının önemli bir

elemandır. Proteinaz inhibitörleri, kemokinler ve nöropeptitler gibi diğer peptitler de antimikrobiyal aktivite gösterse de, katelisidinler ve defensinler dışı epitelindeki AMP'lerin ana ailelerini oluşturmaktadır. İnsan katelisidinin yanı sıra insan β -defensinlerinin yapıcı ve indüklenabilir ekspresyonu dışı epitelinde gözlenmiştir (54).

Son onbeş yılda, artan sayıda yayın, periodontal ve oral doku homeostazında antimikrobiyal peptitlerin (AMP'ler) etkisini öne sürmektedir. Yedinci Avrupa Periodontoloji Çalıştayı, AMP'lerin oral patojenler üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri ve diğer yandan hem doğal hem de adaptif immün yanıt üzerindeki immünomodülatör etkileri sayesinde ağız boşluğu stabilitesini etkileyebileceğine dikkat çekmiştir(55). Bu peptitlerin bazıları mevcut yara onarım sürecine, hücre göçüne ve kemotaksisine müdahale etme yeteneği olduğu bildirilmiştir (56).

Katelisidinler (LL-37), ilk olarak aktif olmayan bir prekürsör olarak üretilen: hCAP18 (İnsan katyonik antimikrobiyal peptit 18), daha sonra proteolitik bölünme ile aktive edilerek LL-37 aktif bir formuna dönüşen, 37 amino asitli bir katyonik peptittir(57). LL-37 yapısı, hem patojenlerin membranlarına hem de lipopolisakkaritlere (LPS) bağlanarak patojenlerde porlar açılmasını indüklemektedir. Bu peptit ayrıca, patojenlerin tanınmasında ve doğuştan gelen bağışıklık sisteminin aktivasyonunda temel bir rol oynadığı bilinen toll benzeri reseptör 3 (TLR3) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (58).

4.3.1. Defensinler

Defensinler, doğuştan gelen bağışıklık süreçlerinde önemli rol oynayan antimikrobiyal peptitlerdir (59). İnsan defensinleri, üç çift zincir içi disülfid bağı oluşturan altı yüksek oranda korunmuş sistein kalıntısı içeren bir katyonik protein ailesinden oluşmaktadır. Disülfid bağlarının hizalanması ve moleküler yapısına bağlı

olarak, insan defensinleri α - ve β -defensinler olmak üzere iki alt aileye ayrılmaktadır (60).

4.3.1.1 .Alfa-defensinler (α -defensinler)

α -defensinler 29-35 kalıntı uzunluğundadır ve 1-6, 2-4, 3-5 hizasında üç disülfid köprüsü içermektedir. İnsan α -defensinleri -1, -2, -3 ve -4 başlangıçta nötrofillerden izole edilmiş, bu nedenle geleneksel olarak insan nötrofil peptitleri (HNP)-1, -2, -3 ve -4 olarak adlandırılmışlardır (61).

HNP-1, -2, -3 ve -4, nötrofillerin ve monositlerin/makrofajların granüllerinde tamamen işlenmiş olgun peptitler halinde depolanmakta ve hücre dışına salınabilmektedir (61). İnsan defensinleri-5 ve -6 olarak bilinen diğer iki α -defensin, Paneth'in ince bağırsak hücrelerinde ve kadın ürogenital yolunun epitel hücrelerinde bol miktarda ekspere edilmektedir (60).

α -defensinlerin antimikrobiyal spektrumu, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterileri, maya ve filamentli mantarları, birçok zarflı virüsü ve mikobakteri türünü kapsamaktadır (62). Ek olarak, α -defensinler konağın doğuştan gelen ve adaptif bağışıklığın düzenlenmesine de katkıda bulunmaktadır. HNP'ler CD4/CD45RA ve CD8+ T hücreleri ve periferik kan monositlerinden veya CD34 hematopoietik progenitör hücrelerinden üretilen olgunlaşmamış dendritik hücreler için kemotaktiktir ve böylece adaptif immün yanıtı uyarmaktadırlar (63). Ayrıca, HNP'nin mast hücre degranülasyonuna neden olduğu ve bunun da histamin dahil mast hücre granül ürünlerinin salınmasına yol açtığı gösterilmiştir(64). Bunlara ek olarak, HNP'ler, insan solunum yolu epitel hücreleri tarafından IL-8 üretimini uyarma yeteneğine sahiptirler. Bu durum, IL-8'in güçlü bir nötrofil toplayıcısı olması ve toplanan nötrofillerin patojenlere karşı güçlendirilmiş doğuştan gelen bağışıklık tepkilerine yol açabilecek olan ek defensinleri serbest bırakan pozitif feed-back döngüsüyle sonuçlanabilmektedir (65).

4.3.1.1.1 .Alfa-defensinler ve periodonsiyum

Nötrofil granülleri, monositler ve doğal öldürücü hücrelerde sıkça bulunan nötrofil defensinleri, oronazal boşlukta yaygın olarak eksprese edilmektedir. Tükürük bezi dokularının yanı sıra tükürük, dişeti oluğu sıvısı ve burun salgıları da dahil olmak üzere oronazal boşluğun doku ve salgıları, yüksek miktarda insan nötrofil defensinlerini içermektedir(66).

Nötrofil α -defensinleri daha önce yapılan çalışmalarda, birleşim epitelinde(67) ve epitel ile diş yüzeyi arasında yeralan dişeti oluğu sıvısında tespit edilmişlerdir(68).

β -defensinler, birleşim epitelinin farklılaşmamış hücrelerinde zayıf bir şekilde eksprese edilirken, α -defensinler birleşim epitelinden dişeti sulkusuna göç eden nötrofillerde yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Böylece, birleşim epiteli α -defensinler tarafından korunurken, farklılaşmış çok katlı epitel ise β -defensinler tarafından korunmakta ve antimikrobiyal etki göstermektedir (67-68).

Alfa defensinler, fagositlerde oksidatif olmayan öldürmeyi indüklemekte veya dokuda doğrudan bir antimikrobiyal olarak hareket edebilmektedir (54). İnsan nötrofil peptitlerinin ağız boşluğundaki antimikrobiyal aktivitesi hakkında bilinenlerin çoğu, tükürük ve dişeti oluğu sıvısı çalışmalarından gelmektedir. Degranülasyon üzerine nötrofiller, dişeti oluğu sıvısı ve tükürük gibi salgılarda insan nötrofil peptitlerini serbest bırakmaktadır. Dişeti oluğu sıvısında ve tükürükte bulunan insan nötrofil peptit-1'in *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis*'i hedefleyebildiği tespit edilmiştir. Öte yandan, dişeti oluğu sıvısındaki ve tükürüğündeki insan nötrofil peptit-2 ve -3'ün, *P. gingivalis* ve *A. actinomycetemcomitans*'ı hedef aldığı gösterilmiştir(69).

İnsan nötrofil peptitleri, antimikrobiyal aktivite sağlamak için her zaman tek başına hareket etmemektedirler. Yapılan bir çalışmada, insan nötrofil peptit-1 ve LL-

37'nin *E. coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı sinerji içinde hareket ettiği gösterilmiştir(66).

Alfa-defensinler, antimikrobiyal, antiviral ve antiparaziter etkilerin yanısıra, doğrudan kemotaktik olabilmektedirler. Seçici sitokin/kemokin indüksiyonuna sahip olmalarının yanında, yara iyileşmesine katılıp, kollajen üretimini artırabilir, kompleman aktivitesini inhibe edebilir ve hücre ölümünü indükleyebilmektedirler (70).

4.3.1.2. Beta-defensinler (β -defensinler)

β -defensinler, yaklaşık 30 yıl önce sığır granülositlerinde ve trakeal epitel hücrelerinde keşfedilmiştir (71). İnsanlarda β -defensin-1 (hBD-1), 2 (hBD-2), 3 (hBD-3) ve 4 (hBD-4) olarak adlandırılan dört β -defensin tanımlanmaktadır. β -defensinler, farklı sistein eşleşmeleri ve aralıkları, küçük ve daha az anyonik ön parça(propiece), üç yerine iki ekzonlu genler ve nispeten daha fazla lizin içermeleriyle α -defensinlerden farklıdırlar. Ancak hemen hemen aynı şekilleri ve genlerinin 8p22-p23 kromozomu üzerindeki yan yana dizilişi, α - ve β -defensinler için ortak bir kökene işaret etmektedir (72). Bu ~4-5 kDa ağırlığındaki peptitler, yüksek sayıda Lys ve Arg tortusu nedeniyle nötr pH'da oldukça katyoniktirler. Bilinen β -defensin dizilerinin bir hizalanması, yüksek oranda korunmuş olan hemen hemen tüm kalıntıların yapısal roller oynadığını gösterirken, diğer kalıntıların çoğu oldukça değişken olduğu belirtilmektedir (73).

4.3.1.2.1. Beta-defensinlerin antibakteriyel aktiviteleri

hBD'ler, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler, virüsler ve mantarlar dahil olmak üzere geniş bir mikroorganizma spektrumunu öldürme ve/veya inaktive etme kapasiteleri ile bilinmekte ve bu onları konakçı doğuştan gelen savunmanın doğrudan efektörleri olarak göstermektedir (74). Düşük iyonik kuvvet koşulları ve iki değerlikli katyonların düşük konsantrasyonları gibi optimal koşullar altında, hBD'lerin

antimikrobiyal aktivitesi 1-10 µg/ml kadar düşük yoğunluklarda gözlenmektedir. Bu hBD'lerin dizi benzerliklerine sahip olmakla birlikte, antimikrobiyal etki, etkinlik ve özgülükteki özellikleri nispeten farklılık göstermektedir (74).

HBD-1, mikromolar konsantrasyonlarda *E. coli*'yi ve 60 ila 500 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda diğer Gram-negatif bakterileri etkisiz hale getirdiği gösterilmiştir (75). Antibakteriyel aktivitesi genellikle hBD-2 ve -3'ünden daha düşüktür (76). HBD-2'nin, 10 ug/ml'ye yakın bir LD90 (koloni oluşturan birimlerde %90 azalma sağlayan doz) ile *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'yı öldürmede oldukça etkili olduğu görülmüştür (77). *Candida albicans*, 25 ug/ml'lik bir LD90 ile etkisiz hale gelmesine karşın, bir Gram pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus* üzerinde bakteriyostatik bir etkinin yalnızca 100 µg/ml kadar yüksek konsantrasyonlarda elde edildiği gösterilmiştir (78). HBD-3, düşük konsantrasyonlarda bile hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (62). Gram negatif bakteriler, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı mikrobisidal aktiviteye ek olarak, hBD-3 ayrıca çok dirençli *S. aureus* dahil olmak üzere *Streptococcus pyogenes* veya vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* gibi Gram pozitif bakterilere karşı da mikrobisidal aktivite göstermektedir (77). HBD'lerin ayrıca *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus* gibi çeşitli periodontopatojenik ve karyojenik bakterilere karşı değişken bakterisit aktiviteleri olduğu bildirilmiştir (76).

4.3.1.2.2. Beta-defensinlerin immün düzenleyici aktiviteleri

HBD'lerin antimikrobiyal etkilerine ek olarak, doğuştan gelen bağışıklıkta da etkili olduğu görülmektedir. HBD-2, mast hücrelerinin enflamasyon odaklarına çağırılması için kemotaksin görevi görmekte ve mast hücrelerinin aktivasyonunu ve degranülasyonunu indükleyerek histamin ve prostaglandin D2 salınımına neden olabilmektedir(79)(80). HBD-2 ayrıca TNF-alfa ile muamele edilmiş nötrofiller için güçlü bir kemo-çekici olmasına rağmen, TNF-alfa'nın yokluğunda kültive edilmiş

nötrofiller üzerinde kemotaktik aktivitesini yitirdiği gösterilmiştir (81). HBD-3'ün, 50 nM'de maksimum tepki veren monositler için potansiyel bir kemo-çekici olduğu, ayrıca hBD-4'ün de 10 nM'de maksimum bir tepki ile monositlerin göçüne neden olduğu gösterilmiştir (82)(83).

HBD'ler doğuştan gelen bağışıklık yanıtındaki etkisinin yanında, mikrobiyal istilaya karşı adaptif bağışıklığı başlatmaya ve sürecin sürdürülmesine de katkıda bulunabilmektedir. HBD-2 ve daha az ölçüde HBD-1'in, insan kemokin reseptörü CCR6 ile etkileşim yoluyla, olgunlaşmamış dendritik ve hafıza T hücrelerini mikrobiyal istila bölgesine toplayarak adaptif bağışıklık tepkilerini desteklediği gösterilmiştir (84). HBD-1 ve -2'ye benzer şekilde, hBD-3 de olgunlaşmamış dendritik hücreler için kemotaktik etkiler göstermektedir (85). Olgunlaşmamış dendritik hücreleri ile yapılan bir in vitro çalışmada hBD-2 ve -3'ün, IL-2 üretimini indükleyerek dendritik hücrelerin olgunlaşmasını destekleyebildiği gösterilmiştir (86).

4.3.1.2.3. Beta defensinler ve periodonsiyum

Oral kavitedeki bakterilere karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkisi periodontal savunmada anahtar bir rol oynadığından (87), klinik olarak sağlıklı periodontal dokularda bile konakçı ve bakteri arasında sürekli bir “silahlanma” yarışı vardır. Bu nedenle, periodonsiyumun, kommensal floradan karşı zarar görmemesini sağlayan biyolojik mekanizmaları anlamak, periodontal hastalığın karmaşıklığını ve seyrini anlamamızda önemli rol almaktadır (88).

Dişeti epitelinin üst spinoz, granüler ve kornifiye tabakalarında yaygın olarak eksprese edilen beta defensinler oral kaviteye karşı bir bariyer görevi görmektedirler (67). Beta defensinlerin fibroblast hücre kültürlerinde gözlemlenen immün cevabı düzenleyici etkisiyle defensinlerin sadece dişeti epitelinde değil dişeti bağdokusunda da etkili olduğu düşünülmektedir (5). Mukozal immünitinin önemli peptitlerinden olan beta defensinler, periodontal yara iyileşmesindeki rolü (89)(80)ve periodontal

hastalık patogenezindeki fonksiyonlarıyla(90) periodontal dokular için önem taşımaktadır.

4.4. Vitaminler

Vitaminler beslenmenin temel bileşenleridir ve çeşitli biyolojik süreçlerin sürdürülmesi için gerekli olan organik bileşik grubudur. Vücut, vitaminlerini kendisi sentezleyemediğinden veya yeterli miktarda olmadığı için vitaminlerin beslenme yoluyla sağlanması gerekmektedir. Günümüze kadar tanımlanan on üç vitamin çözünürlüklerine göre iki sınıfa ayrılırlar: suda çözünen vitaminler ve yağda çözünen vitaminler. Yağda çözünen vitaminler ayrıca dört bileşik grubuna ayrılmaktadır: vitamin A (retinol), D (kolekalsiferol), E(tokoferoller ve tokotrienoller) ve K (fillokinon ve menakinonlar). Yağda çözünen vitaminler, lipofilik olmaları nedeniyle dolaşımda lipoproteinler, retinol bağlayıcı protein, vitamin D bağlayıcı protein gibi spesifik taşıyıcı proteinler ile birlikte taşınmaktadırlar. Bu vitaminlerin, etkilerini göstermeleri veya uygun şekilde metabolize edilebilmeleri için taşıyıcı proteinler tarafından hücre içine taşınması gerekmektedir (91).

Tüm vitaminlerin yeterli alımı önemli olmakla birlikte, suda çözünen vitaminlerin vücutta depolanmamasından dolayı, eksikliği önlemek için düzenli olarak alınması gerekmektedir. Suda çözünen vitaminler arasında Vitamin C ve Vitamin B kompleksi (tiamin, riboflavin, niasin, pantotenik asit, piridoksin, biotin, folat ve kobalamin) bulunmaktadır. B vitamini kompleksi ve C vitamini birçok gıdada, özellikle sebze ve meyvelerin yanı sıra süt, et, baklagiller, bezelye, karaciğer, yumurta ve tahıllarda bulunmaktadır. Biyokimyasal reaksiyonlarda kofaktör olarak hizmet etmenin yanı sıra, B vitamini kompleksi normal vücut büyümesi ve gelişimi, sağlıklı cilt, sinir ve kardiyovasküler sistemin düzgün çalışması ve eritrosit oluşumu için hayati öneme sahiptir (92).

4.4.1. Retinoik asit (Vitamin A)

“A Vitamini” genel olarak retinol ve retinolün sentetik analoglarını (All-trans-retinoik-asit, 13-cis-retinoik asit, karotenoidler, provitamin A) ifade etmektedir(93). Çeşitli metabolitleri görme, hücrel farklılaşma, epitelin bariyer fonksiyonu ve bağışıklık sistemi için önem taşımaktadır. A vitamini beslenme yoluyla iki şekilde elde edilmektedir. Önceden oluşturulmuş A vitamini (retinol ve retinil ester), et, süt ürünleri ve balık gibi hayvansal kaynaklardan elde edilmektedir. Provitamin A (beta-karotenoid) turuncu renkli meyve ve sebzelerden elde edilir. Alınan her iki A vitamini formu, biyolojik süreçleri desteklemek için absorpsiyondan sonra retinal ve retinoik aside dönüştürülmelidir (94).

A vitamini eksikliği küresel olarak önemli bir halk sağlığı sorunudur. Altı ay ile beş yaş arasındaki çocuklarda morbiditenin yüksek olduğu ülkelerde önlenabilir hastalıklar nedeniyle çocuk morbidite ve mortalite oranını büyük ölçüde azaltmak için A vitamini takviyesi önemli ve uygun maliyetli bir müdahale olarak kabul edilmektedir. Göze A vitamini takviyesine verdiği olumlu yanıt kanıtlanmış olup, kseroftalmi ve gece körlüğü gibi hastalıklarda sıklıkla başvurulmaktadır. A vitamininin hücre morfogenezi, farklılaşması ve proliferasyonuna katılımı, gen regülasyonu için esastır. Ek olarak, antioksidan işleviyle, DNA'da oluşabilecek reaktif oksijenlere bağlı hasar riskini azaltmaktadır (95).

4.4.1.1. Retinoik asitin metabolizması

Vücut tarafından sentezlenemeyen A vitamini, ince bağırsaktaki bağırsak epitel hücreleri (IEC'ler) tarafından esterifikasyon yoluyla farklı yağ asitleri ile birleştirilerek şilomikron olarak adlandırılan yapılara dönüştürülmektedirler. Dolaşıma karışan şilomikronlar hedef dokulara taşınır veya karaciğerde depolanır ve hidroliz yoluyla retinol formuna dönüştürülmektedir (96).Dolaşımda bulunan retinol, retinol bağlayıcı proteinlere (RBP'ler) bağlanmaktadır (97). Hücre içerisindeki retinoller palmitat ve

diğer retinil esterlerine dönüştürülür veya alkol dehidrojenazlar (ADH'ler) tarafından retinaldehit oluşturmak üzere hidrolize uğramaktadırlar (98). Retinaldehit dehidrojenazlar (RALDH'ler) aracılığıyla gerçekleşen ikinci hidroliz sonrasında retinoik asitler (RA) oluşmaktadır. Yeni sentezlenen retinoik asit, hücrel RA bağlayıcı proteinlere (CRABP'ler) bağlanabilmektedirler. Retinoik asitler, CRABP-I'e bağlandığında, degradasyon için hedeflenirken, CRABP-II'e bağlandığında, RA'yı nükleer retinoik asit reseptörleri (RAR) ile bağlandığı çekirdeğe taşımakta ve RA hedef genlerinin transkripsiyonunu desteklemektedir. RA, CRABP'lar ile bağlanmasıyla otokrin fonksiyon göstermektedir (99). Alternatif olarak, RA hücreden çıkıp yakındaki bir hücreye serbestçe girebilmekte (parakrin fonksiyonu) veya vücutta dolaşımına devam edebilmektedir. Bu alternatif yol ise RA'nın parakrin fonksiyonunu temsil etmektedir (98).

4.4.1.2. Retinoik asit ve nükleer reseptörler

Retinoik asit sinyali, retinoik asit reseptörü (RAR) ailesi (RAR α , RAR β , RAR γ) ve retinoid X reseptörü (RXR) ailesi (RXR γ , RXR β , RXR α) tarafından iletilir. Bu reseptörler, nükleer hormon reseptörlerinin süper ailesine ait olup, ligand aktivasyonu ile transkripsiyon faktörü olarak rol almaktadırlar (100). RAR'lar için doğal ligandlar all-trans retinoik asit (ATRA) ve onun stereoizomerleri olan 9-cis-RA ve 13-cis-RA'dır. RXR'lerin doğal ligandı ise 9-cis-RA'dır. RAR'lar, RAR/RXR heterodimerleri olarak işlev görmektedirler. Ligand-reseptör kompleksleri, spesifik retinoik asit tepki elemanlarına (RARE'ler) bağlanarak birkaç genin indüklenabilir transkripsiyon düzenleyicileri olarak hareket etmektedirler (101).

Retinoik asit analoglarından birisi olan 9-cis-RA, RAR ve RXR'lerin aktivasyonunda aynı kabiliyete sahipken, ATRA RXR'leri aktive etmede 50 kat daha zayıftır (102). RXR'lerin yağ asidi biyosentezi, metabolizması veya taşınmasına katılan diğer nükleer reseptörlerle birleşmesi ve oleik asit, dokosaheksaenoik asit bağlantıları da göz önüne alındığında, RXR'nin asıl ligandlarının yağ asitleri olduğu düşünülebilmektedir (103).

4.4.1.2.1. Retinoik asit reseptörü (RAR)

Retinoik asit yokluğunda, RAR'lar çoğunlukla nükleusta bulunup, SMRT (Silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor) ve NCoR (Nuclear receptor corepressor) gibi koruyucularla kompleks haline getirilmiş RARE'lere bağlanmaktadır (104).

RAR'ların RA hedef genlerinin düzenleyici bölgelerindeki RARE bölgelerine doğrudan bağlanmasına ek olarak, RAR/RXR dimerleri, c-Jun ve c-Fos tarafından oluşturulan bir kompleks olan AP-1 (Aktivatör protein-1) gibi RA'dan bağımsız transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini kontrol edebilmektedir. Hem RAR/RXR heterodimerleri hem de homodimerler, AP-1 DNA bağlanmasını bloke ederek ve c-Jun (Transkripsiyon faktörü Jun) ve c-Fos (Protein c-Fos)'un dimerizasyonunu bozarak AP-1 aracılı transaktivasyonu inhibe edebilmektedir (105). AP-1 ve RAR'lar arasındaki baskılayıcı etkileşim karşılıklıdır ve c-Jun ve c-Fos, RAR aracılı transkripsiyonel aktiviteyi baskılayabilmektedir. AP-1 aktivasyonunun bağlanmış RAR'lar tarafından kontrolü, hücre için önemli sonuçlara sahiptir ve retinoidlerin anti-enflamatuar ve diğer klinik etkilerine dahil olabilmektedir (106).

4.4.1.2.2. Retinoik x reseptörü (RXR)

1990'da Mangelsdorf ve arkadaşları tarafından orphan reseptörlerden birinin RXR olarak adlandırılan retinoide duyarlı farklı bir transkripsiyon faktörünü temsil ettiği keşfedildi. RAR'ın tiroid hormon reseptörüne RXR'den daha benzer olması, bu iki retinoid reseptör grubunun farklı metabolik yolların düzenlenmesinde rol oynadığını düşündürmektedir. RXR α , β ve γ olarak adlandırılan üç RXR alt tipinin ekspresyon modeli oldukça farklı olmalarına rağmen, homolojileri bu reseptörlerin ortak ligandlara yanıt verdiğini göstermektedir. RXR- α karaciğer, böbrek, dalak, plasenta, epidermis ve çeşitli iç organ dokularında yüksek seviyelerde ekspresyon gösterirmekte RXR- β yine RXR- α 'ler gibi hemen hemen her dokuda bulunabilirken,

RXR- γ ekspresyonu esas olarak kaslarda ve beyinde gerçekleşmektedir. RXR'lerin farklılaşma ve metabolizması üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, embriyo implantasyonundan organogeneze kadar çok çeşitli gelişim süreçlerinde ve ayrıca yetişkin fizyolojisinin düzenlenmesinde kritik roller oynadığını göstermektedir (107).

4.4.1.3. Retinoik asit ve periodonsiyum

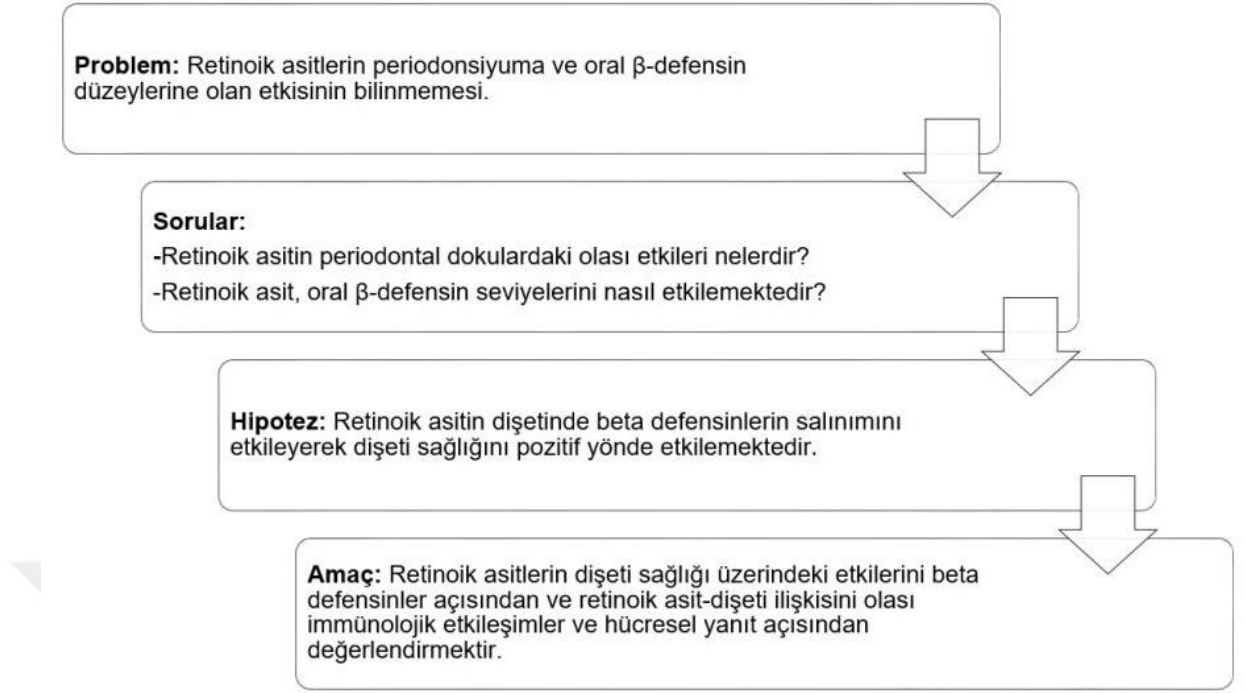
Retinoik asitlerin farklı hücre türlerine yaptığı etkilerin yanı sıra osteoblast proliferasyonu ve farklılaşmasında etkin rol oynadığı gösterilmiştir. Farelerde yapılan bir çalışmada A vitamininden yoksun bir diyetle beslenen farelerde periodontal ligament yapısının bozuk oluşu, retinoik asitlerin dental dokuların gelişiminde de etkin rol oynadığını göstermektedir (108). Retinoik asitin insan dişeti epitel bariyeri üzerindeki etkisini araştıran başka bir çalışmada retinoik asitin, sıkı bağlantı proteinlerinin (Tight junction proteinleri) değiştirilmiş ekspresyonuyla, epitel bariyerine pozitif etki sağladığı gösterilmiştir (16). Farelerde oluşturulmuş *Porphyromonas gingivalis* kaynaklı periodontitis modelinde retinoik asidin her gün oral yoldan takviyesinin, enflamatuar hücre infiltrasyonunu inhibe ettiği, düzenleyici T hücrelerinin aktivasyonunu arttırdığı ve gelişebilecek alveolar kemik kaybının önüne geçtiği gösterilmiştir (12). Bununla birlikte ilginç bir şekilde, son zamanlarda retinolün, retinol bazlı periodontal rejeneratif tedavilerde yeni bir kapsamının yolunu açabilecek bir özellik olan nükleer bazların demetilasyonu yoluyla hücrel epigenetiği etkileme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (13). İnsan morfogenezinde etkin rol oynayan retinoik asitlerin, periodontal sağlığın idamesinde ve periodontal enfeksiyondaki yeri yapılan çalışmalarla önem kazanmaktadır.

Dermatolojik hastalıklarda sıklıkla kullanılan retinoik asitler, etkisini hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını, hayatta kalmasını ve apoptozunu etkileyerek göstermektedir. Bu etkiler sonucunda hastalarda sebum üretimini azaltmakta, ciltteki lipid kompozisyonunu değiştirmekte, anormal foliküler keratinizasyonu önlenmekte ve iltihap baskılanmaktadır (109,110). HBD'ler, periodontal dokulardaki en yaygın antimikrobiyal peptitlerdir. Yapısal olarak veya uyaranlara karşı salınan defensinlerin,

gösterdikleri bakteriyosidal aktiviteyle doğuştan gelen konak savunmasına ve efektör ve düzenleyici fonksiyonlarıyla adaptif bağışıklığa katkıda bulunduğu gösterilmektedir (111). Sistemik isotretinoin kullanan hastalarda yapılan bir çalışma, retinoik asitin kutanöz hBD-1 seviyesini etkilemezken, kutanöz hBD-2 düzeylerini düşürdüğü göstermiştir(112). Deri keratinositleri ile yapılan başka bir in-vitro çalışmada, proenflamatuar sitokinler ve *P. aeruginosa*'nın indüklediği hBD-2, -3 ve -4 gen salınımının retinoik asit muamelesiyle azaldığı bildirilmektedir (14). Her ne kadar geçmiş çalışmalarda retinoik asitin kutanöz hBD düzeylerini ve deri keratinositlerindeki mRNA salınımını baskıladığı rapor edilmiş olsa da, retinoik asitin oral ve periodontal dokular üzerindeki olası etkisi henüz değerlendirilmemiştir. Bilgimiz dahilinde retinoik asitlerin dişetindeki immün cevaba olan etkisinin beta defensinler üzerinden gösterildiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızın amacı, retinoik asitlerin dişeti sağlığı üzerindeki etkilerini beta defensinler açısından ve retinoik asit-dişeti ilişkisini olası immünolojik etkileşimler ve hücresel yanıt açısından değerlendirmektir (Şekil 4.2). Çalışmanın ön görülen sonuçlarına göre retinoik asitlerin dişetindeki immün cevabı etkileyerek, periodontal hastalığa karşı koruyucu görevde olacağı öngörülmektedir. Bu sonuçlar dahilinde periodontal hastalık tedavisi sırasında ya da hastalığın ilerleyişinde retinoik asitin olası etkilerini değerlendirilecek ve hasta grubunun profilaksi ve tedavi yöntemlerine yeni bir bakış kazandırılacaktır.

Çalışmanın hipotezi, retinoik asitin dişetinde beta defensinlerin salınımını etkileyerek dişeti sağlığını pozitif yönde etkileyeceğidir.



Şekil.4.2: Problemin tanımı. Retinoik asitlerin periodontal dokulara ve oral beta defensin düzeylerine olan etkisinin bilinmemesi problemine karşı cevaba ihtiyaç duyulan sorular, planlanan çalışmanın hipotezi ve amacı şekilde belirtilmektedir.

5. MATERİYAL VE METOD

5.1. Hasta Seçimi ve Örneklem Büyüklüğü

Örnek boyutu analizi, belirli bir yazılım¹ kullanılarak çalışma başlamadan önce yapılmıştır. Büyük etki büyüklüğü (0.8), 0.05 α -hatası ve %80'lik güç kullanılarak elde edilen toplam örneklem büyüklüğü 52 olarak bulunmuştur. Ancak, karışıklık ve eksik veri olasılığı göz önüne alındığında, çalışma 70 hastayı içerecek şekilde tasarlanmıştır.

Araştırmaya katılanlar, 2021 Mart- 2022 Şubat tarihleri arasında İstanbul Medipol Üniversitesi Esenler Hastanesi Dermatoloji Kliniği ve İstanbul Medipol Üniversitesi Unkapanı Hastanesi Periodontoloji Anabilim dalı kliniklerine başvuran hastalardan oluşmaktadır. Katılımcıların çalışmaya dahil edilmeleri eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya uygun olan katılımcıların seçilmesine dair detaylı şema Şekil 5.3 ve Şekil 5.4'de verilmiştir.

Kontrol grubu için çalışmaya dahil edilme kriterleri; 1) 18 yaşından büyük olmak, 2) en az 20 dişe sahip olmak ve 3) sistematik olarak sağlıklı olmak ve 4) ortodontik, protetik veya estetik nedenlerle dişeti eksizyonuna ihtiyaç duymaktır. Çalışmanın dışlanma kriterleri, 1) periodontitis tanısı almış veya tedavi görmüş olmak, 2) retinoik asit dışında herhangi bir sistemik ilacı kronik olarak kullanmak, 3) sigara içmek, 4) antibiyotik ve/veya anti-enflamatuar, nonsteroidal anti-enflamatuar ilaçlar steroid kullanımıdır. Çalışmadan önceki 3 ay içinde immünosupresanlar, beta blokerler, kalsiyum kanal blokerleri, antikoagülanlar ve hormonal kontraseptifler, 5) hamilelik veya emzirme, 6) ortodontik aparey kullanımı.

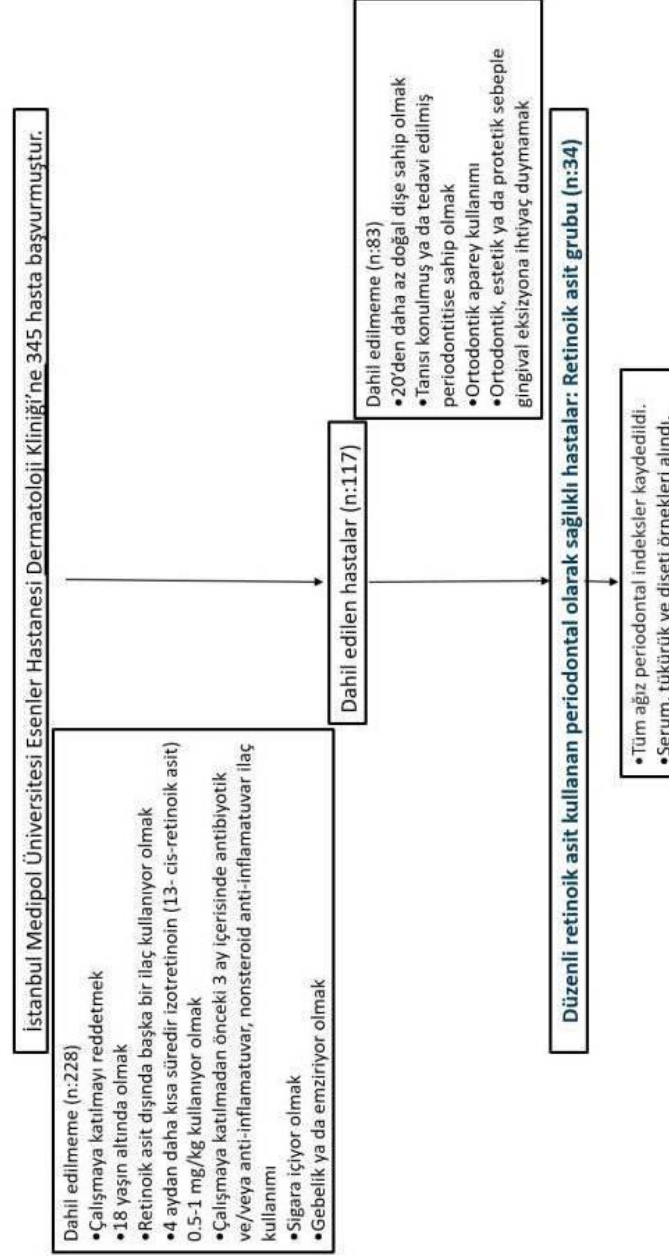
¹ 3.1.9.2 G*Power

Retinoik asit grubu için çalışmaya dahil edilme kriterleri; 1) 18 yaşından büyük olmak, 2) en az 20 dişe sahip olmak ve 3) sistematik olarak sağlıklı olmak 4) ortodontik, protetik veya estetik nedenlerle dişeti eksizyonuna ihtiyaç duymaktır. Çalışmanın dışlanma kriterleri, 1) periodontitis tanısı almış veya tedavi görmüş olmak, 2) retinoik asit dışında herhangi bir sistemik ilacı kronik olarak kullanmak, 3) 4 aydan daha kısa süredir izotretinoin (13- cis-retinoik asit) 0.5-1 mg/kg kullanıyor olmak 4) sigara içmek, 5) antibiyotik ve/veya anti-enflamatuar, nonsteroidal anti-enflamatuar ilaçlar steroid kullanımıdır. Çalışmadan önceki 3 ay içinde immünosupresanlar, beta blokerler, kalsiyum kanal blokerleri, antikoagülanlar ve hormonal kontraseptifler, 6) hamilelik veya emzirme, 7) ortodontik aparey kullanımı.

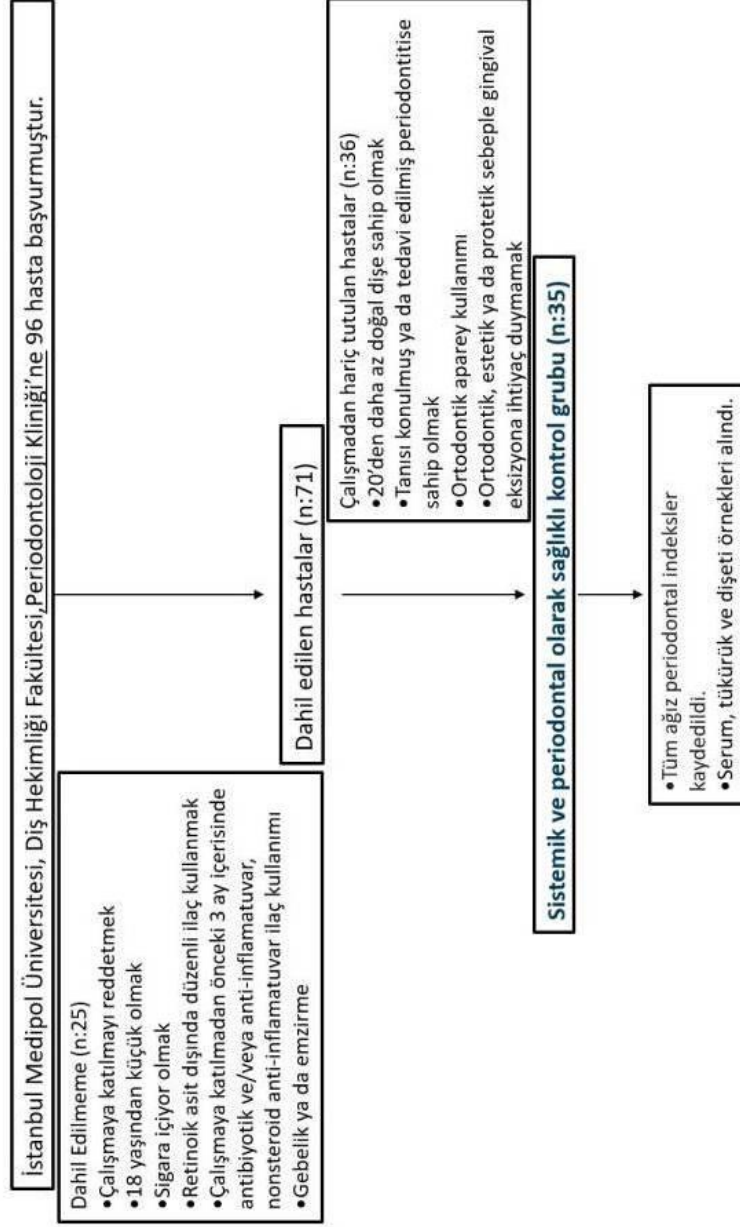
Periodontal muayeneler sonrasında 34 retinoik asit kullanıcısı ve 35 sistemik ve periodontal olarak sağlıklı katılımcı çalışmaya alınmıştır. Retinoik asit grubundaki tüm katılımcılar küresel akne derecelendirmesine göre(113) orta ve şiddetli akne vulgaris veya nodüler akne tedavisi için bir dermatolog kontrolünde minimum 4 ay, maksimum 7 ay boyunca 0,5-1 mg/kg izotretinoin (13-cis-retinoik asit) tedavisi alan hastalardan oluşmaktaydı.

İstanbul Medipol Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından 30/12/2020 tarihinde E-10840097-772.02-66558 onay numarasıyla, araştırmanın etik ve bilimsel yönden uygun olduğuna oybirliğiyle karar verilmiştir.

Dahil etme ve hariç tutma kriterlerine uyan tüm bireyler periodontal muayeneye davet edilmiştir. Davet edilen tüm katılımcılara çalışma protokolü hakkında sözlü ve yazılı bilgi verilmiş ve bilgilendirilmiş onamları alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen katılımcılara ait şema Şekil. 5.1 ve Şekil 5.2’de gösterilmiştir.



Şekil.5.1: Retinoik asit grubuna ait dahil edilme, hariç tutulma kriterleri



Şekil.5.2: Kontrol grubuna ait dahil edilme, hariç tutulma kriterleri

5.2. Sosyodemografik Verilerin Toplanması ve Anket Formu

Katılımcılardan alınan onam sonrası sosyodemografik veriler Şekil.5'teki anket ile kaydedilmiştir. Hastaların yaş, cinsiyet, diş fırçalama sıklıkları, diş ipi ya da arayüz fırçası kullanımları ve sıklıkları, boyları, kiloları ve retinoik asit grubundaki hastalar için retinoik asit kullanım süreleri ve dozları kaydedilmiştir.

1.Hasta No:	Tarih:		
2.Ad Soyad:			
3. Yaş:.....			
4. Cinsiyet:	Kadın:	Erkek:	
5. Dişlerinizi fırçalıyor musunuz ?			
Hayır			
Evet ise günde	Düzensiz	1 kez	2 veya daha fazla
6. Diş ipi/aryüz fırçası kullanıyor musunuz?			
Hayır			
Evet ise günde	Düzensiz	1 kez	2 veya daha fazla
7. Boy (cm):.....			
8.Kilo (kg):.....			
9. Her bir hastalık için kullanılan ilaçlar:			
.....			
.....			

Şekil.5.3: Sosyodemografik veri anketi

5.3. Klinik Periodontal Ölçümler

Sosyodemografik verilerin kaydından sonra çalışmaya katılan tüm hastalardan Sondalanan cep derinliği (SCD), klinik ataşman kaybı (AK), plak indeksi (Pİ), dişeti çekilmesi (DÇ) ve sondalamada kanama (SKİ) 4 bölgede (mesial-distal, fasiyal-lingual) önce Şekil.5’de gösterilen periodontal indeks kağıdına, daha sonra da bilgisayara kaydedilmiştir. Periodontal indekslerin ölçümü tek hekim (NA) tarafından, serum ve tükürük örneklerinin toplanmasının ardından yapılmıştır.

Hasta No	
Ad Soyad	
Takip zamanı / tarih	

SCD (ort)	
PI (ort)	
DG (ort)	
KAD (ort)	
SKİ (4)	

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

Diş No	Plak örneği

Diş No	DGS 14

Kaç ml	
Tükürük	
Kan örneği	

Diş No	Dişeti

Ağız SWAB Bölüm

Şekil 5.4: Periodontal indeks formu

5.3.1. Sondalama cep derinliği (SCD)

Çalışmaya katılan tüm bireylerden SCD ölçümleri, Williams periodontal sondası² kullanılarak araştırmaya dâhil edilen her dişin mezyal, distal, bukkal ve lingual olmak üzere toplam 4 ayrı noktasından milimetrik olarak yapılmıştır. Her hasta için ağız ortalaması mm cinsinden hesaplanmıştır.

5.3.2. Sondalamada kanama (SK)

Cep tabanı ve cep epitelinin enflamatuvar durumunu saptamak amacı ile araştırmaya katılan dişlerin mezyal, distal, bukkal ve lingual olmak üzere toplam 4 yüzünden sondalama derinliği ölçümü yapıldıktan 30 saniye sonra kanama olup olmamasına göre pozitif (+) ya da negatif (-) olarak skorlama yapılmıştır. SK indeksi her hastada aşağıdaki denklem kullanılarak ağız için sondalamada kanama yüzdesi hesaplanmıştır:

$$\text{Kanayan yüzey sayısı} / \text{Total diş yüzeyi sayısı} \times 100$$

5.3.3. Plak indeksi (PI)

1964 yılında Silness ve Løe'nün yapmış oldukları plak indeksine göre dişlerin meziyo-bukkal, disto-bukkal, bukkal ve palatinal/lingual orta noktalar olmak üzere toplamda dört bölgeden ölçüm yapılmıştır. Dişler, pamuk rulolar ile tükürükten izole edilmiş ve daha sonra oral hijyen durumlarının belirlenmesi amacıyla serbest dişeti kenarı boyunca uzanan plağın kalınlığını belirlenmiştir. Bunun sonucunda dişlerin

² LM Dental AB, Nynäshamn, İsveç

üzerindeki plak miktarına 0-3 arasında bir değer verilerek kaydedilmiştir. (Silness ve Loe 1964). Bu skorlama;

0: Diş yüzeyi veya diş eti kenarında plak yoktur.

1: Çıplak gözle bakıldığında fark edilmeyen fakat sondun diş yüzeyinde yüzeyinde gezdirilmesiyle fark edilebilen plak varlığı mevcuttur.

2: Gözle görülür biçimde diş eti kenarında ve diş yüzeyinde orta düzeyde plak varlığı mevcuttur.

3: Diş eti kenarında ve diş yüzeyinde çok yoğun yumuşak eklenti bulunmaktadır. İnterdental bölge tümüyle plak ve/veya diş taşı ile dolmuştur.

$P\bar{I}$ = Tüm dişlerdeki Pİ toplamı / Toplam diş yüzey sayısı

5.3.4. Ataşman kaybı (AK)

Mine sement sınırı ile dişeti oluşu tabanı arasındaki mesafe olarak tanımlanan AK, DÇ VE SD ölçümlerinin milimetrik olarak toplanması ile hesaplanmıştır. AK indeksi her hastada aşağıdaki denklem kullanılarak ağız için ortalama ataşman kaybı hesaplanmıştır:

AK = Tüm dişlerdeki AK toplamı / Toplam diş yüzey sayısı

5.4. Hasta Örneklerinin Toplanması

5.4.1. Tükürük örneklerinin toplanması

Araştırmaya katılan tüm bireylerden, uyarılmamış tükürük örnekleri herhangi bir tedavi veya klinik ölçüm yapılmadan önce ve sabah saatlerinde aç karnıyla toplanmıştır. Tükürme öncesinde hastaların ağzını distile su ile çalkalaması istenmiştir. Hastalardan dik bir pozisyonda oturarak ellerine verilen kaplara tükürmeleri istenmiştir. Hastalar tükürük örneklerinin bulunduğu kapların altında denatürasyonu engellemek için hekim tarafından verilen buz aküsü ile örneklerin serin tutulması sağlanmıştır. Toplanan tükürük örnekleri 2800 RPM'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra Eppendorf tüplerine aktarılmıştır(114). Laboratuvar analizlerine kadar örnekler -80 °C 'de saklanmıştır.

5.4.2. Serum örneklerinin toplanması

Araştırmaya katılan tüm bireylere herhangi bir tedavi veya klinik ölçüm yapılmadan önce venöz ponksiyon yapılmış ve kırmızı kapaklı Falcon tüpleri ile ortalama 5 mL kan örneği alınmıştır(115). Örnekler, serumu ayırmak için 4000 RPM'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Ayrılan serum örnekleri Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Tükürük ve serum örnekleri analiz süresine kadar -80 °C'de saklanmıştır.

5.4.3. Dişeti biyopsilerinin alınması

Dişeti örnekleri, ortodontik olarak çekim ya da protetik olarak kron boyu uzatma/ gingivektomi endikasyonu konmuş dişlerden toplanmıştır. Katılımcılardan

supragingival bakteri plağı biyofilmi ve diş taşı uzaklaştırıldıktan sonra lokal anestezi³ altında dişeti biyopsileri alınmıştır. Oral ve sulküler epitelyumun bir kısmı ve bağ dokusu dahil olmak üzere dişeti eksize edilmiştir. Ortalama 10 mm uzunluğunda, 4 mm genişliğinde ve 2 mm kalınlığındaki eksize edilen dişeti %4 formalin içinde sabitlenmiştir. Katılımcılardan alınan dişeti örnekleri 24 saatten daha kısa bir süre boyunca formalin içinde bekletilerek, doku takip cihazına yerleştirilmiş ve parafin bloklara gömülmüştür.

Katılımcılardan alınan tükürük, serum ve dişeti örnekleri biyolojik materyal taşıma yönetmeliğine uygun olacak şekilde hazırlanmıştır. Tükürük ve serum örneklerinde detanürasyonu önlemek amacıyla – 80 C’yi muhafaza ederek, kuru buz ve strafor kutuyla soğuk zincir sağlanarak Turku Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ne transferi sağlanmıştır. (<https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/09/20100925-5.html>)

5.5. Serum ve Tükürük Örneklerinin Biyokimyasal Analizleri

Turku Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Laboratuvarı’na aktarılan örneklerin analizleri için zaman planlaması yapılmıştır. Tükürük ve serum örneklerindeki hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 protein konantrasyonlarının tespiti için ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi, dişeti örneklerinde ise immünohistokimyasal boyama yöntemleri kullanılmıştır.

³ Ultracain DS Forte, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt, Germany

Tüm laboratuvar analizleri kör olarak yapılmıştır. Tükürük ve serum hBD-1⁴, hBD-2⁵ ve hBD-3⁶ konsantrasyonlarını belirlemek için ticari olarak mevcut ELISA kitleri kullanılmıştır.

5.5.1. ELISA Yönteminin Uygulanması

5.5.1.1. Rekonstitüsyon ve Depolama

5.5.1.1.1. HBD-1 antikorlarının rekonstitüsyonu ve saklanması

Yakalama antikoru kutudan çıkarılıp santrifüj edilmiştir. 0,50ml steril su içerisinde 100µg/ml’lık bir konsantrasyon elde etmek için karıştırılmış ve 51 µl’lik çözeltiler Eppendorf tüplerine aktarılmıştır.

Tespit antikoru kutudan çıkarılıp santrifüj edilmiştir. 0,50ml steril su içerisinde 100µg/ml’lık bir konsantrasyon elde etmek için karıştırılmış ve 51 µl’lik çözeltiler Eppendorf tüplerine aktarılmıştır.

Standart şişesi açmadan önce santrifüj edildi. 1µg/ml’lık konsantrasyon elde etmek için 1ml steril su ile sulandırılmıştır. 100 µl’lik çözeltiler Eppendorf tüplerine aktarılmıştır.

⁴ 900-K202 Peprtech, Londra, Birleşik Krallık

⁵ 900-K172 Peprtech, Londra, Birleşik Krallık

⁶ 900-K210 Peprtech, Londra, Birleşik Krallık

Avidin-HRP Konjugatı santrifüj edilerek 10 adet 6 µl'lık flakona bölünmüştür.

Sulandırılan komponentler -20 derecelik buzdolabına yerleştirilmiştir.

3.5.1.1.2.HBD-2 antikorlarının rekonstitüsyonu ve saklanması

Yakalama antikoru santrifüj edildi. 0,51 ml steril su içerisinde 100µg/ml'lık bir konsantrasyon elde etmek için karıştırılmış ve 100 µl'lik çözeltiler Eppendorf tüplerine aktarılmıştır.

Tespit antikoru kutudan çıkarılıp santrifüj edildi. 0,51 ml steril su içerisinde 100µg/ml'lık bir konsantrasyon elde etmek için karıştırılmış ve 100 µl'lik çözeltiler Eppendorf tüplerine aktarılmıştır.

Standart şişe açılmadan santrifüj edilmiştir. 1µg/ml'lık bir konsantrasyon elde etmek için 1ml steril su ile karıştırılmıştır.

Avidin-HRP Konjugatı santrifüj edilerek 10 adet 6 µl'lık flakona bölünmüştür.

Sulandırılan komponentler -20 derecelik buzdolabına yerleştirilmiştir.

5.5.1.1.3. HBD-3 antikorlarının rekonstitüsyonu ve saklanması

Yakalama antikoru kutudan çıkarılıp santrifüj edilmiştir. 1 ml steril su içerisinde 100µg/ml'lık bir konsantrasyon elde etmek için karıştırılmış ve 100 µl'lik çözeltiler Eppendorf tüplerine aktarılmıştır.

Tespit antikoru kutudan çıkarılıp santrifüj edilmiştir. 1 ml steril su içerisinde 100µg/ml’lık bir konsantrasyon elde etmek için karıştırılmış ve 100 µl’lik çözeltiler Eppendorf tüplerine aktarılmıştır.

Standart şişesi açmadan önce santrifüj edilmiştir. 1µg/ml’lık konsantrasyon elde etmek için 1ml steril su le sulandırılmıştır. 100 µl’lik çözeltiler Eppendorf tüplerine aktarılmıştır.

Avidin-HRP Konjugatı santrifüj edilerek 10 adet 6 µl’lık flakona bölünmüştür.

Sulandırılan komponentler -20 °C’lik buzdolabına yerleştirilmiştir.

5.5.1.2. ELISA Plakalarının Hazırlanması

Tükürük numuneleri hBD-1 analizi için 1:30 oranında seyreltilmiş, hBD-2 veya hBD-3 analizi için herhangi bir seyreltme uygulanmamıştır.

HBD-1 analizi için plakalara yakalama antikoru eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 gece bekletilmiştir. Sonraki gün kuyucuklar 4 defa 300 µl tampon sıvısıyla yıkandı ve kurulanmıştır. Tabakadaki kuyucuklar 300 µl blok tampon solüsyonuyla doldurulmuş ve 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra tabakadaki kuyucuklar 4 defa 300 µl tampon sıvısıyla yıkanmış ve kurulanmıştır.

Standart solüsyonları 1000 pg/ml’den, 15,6 pg/ml’e kadar dilüe edilmiştir. Her bir dilüsyon standart oluşturması için dublike olacak şekilde tabakanın sol tarafındaki kuyucuklara yerleştirilmiştir.

Tükürük örnekleri 10µl tükürük + 290 µl dilüsyon solüsyonu olacak şekilde 1:30 oranında seyreltilmiştir. Tükürük örnekleri, serum örnekleri ve standartlar oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 4 defa 300 µl tampon sıvısıyla yıkanmış ve kurulanmıştır. Oluşan kimyasal reaksiyonun tespiti için ikincil antikör olan tespit antikörleri plakadaki kuyucuklara konulmuş ve 1 saat süreyle inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrasında kuyucuklardaki tespit antikörü yıkanmış ve kurulanmıştır. Kurulanan plakaya eklenmek üzere avidin-HRP konjugatı 5,5 µl Avidin ve 11 µl diluent olacak şekilde seyreltilmiştir. Seyreltilen avidin tüm kuyucuklara 100 µl olacak şekilde yerleştirilmiş ve 30 dakika inkübe edilmiştir.

30 dakika sonrasında yıkanıp kurulunan ELISA plakası kuyucuklarına, kuyucuklarda renk oluşumunu sağlayan ABTS likiti 100 µl olacak şekilde yerleştirilmiştir. Oluşan renk yoğunluklarının miktarının tespiti için, plaka, okuyucuya⁷ yerleştirilmiştir. Okuyucuda 620 nm'lik dalga boyunda renk analizi program⁸ üzerinden yapılarak konsantrasyonlar hesaplanmıştır.

Renk oluşumu 15, 20 ve 25. dakikalarda ayrı ayrı ölçülmüştür.

HBD-2 analizi için plakalara yakalama antikörü eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 gece bekletilmiştir. Sonraki gün kuyucuklar 4 defa 300 µl tampon sıvısıyla yıkanmış ve kurulanmıştır. Tabakadaki kuyucuklar 300 µl blok tampon solüsyonuyla

⁷ ThermoScientific Multiscan FC

⁸ Skanit RE 4.1

doldurulmuş ve 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra tabakadaki kuyucuklar 4 defa 300 µl tampon sıvısıyla yıkanmış ve kurulanmıştır.

Standart solüsyonları 2000 pg/ml'dan, 31,25 pg/ml'e kadar dilüe edilmiştir. Her bir dilüsyon standart oluşturması için dublike olacak şekilde tabakanın sol tarafındaki kuyucuklara yerleştirilmiştir.

Tükürük ve serum örnekleri ile standartlar oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 4 defa 300 µl tampon sıvısıyla yıkanmış ve kurulanmıştır. Oluşan kimyasal reaksiyonun tespiti için ikincil antikör olan tespit antikorları plakadaki kuyucuklara konulmuş ve 1 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrasında kuyucuklardaki tespit antikoru yıkanmış ve kurulanmıştır. Kurulanan plakaya eklenmek üzere avidin-HRP konjütatı 5,5 µl Avidin ve 11 µl diluent olacak şekilde seyreltilmiştir. Seyreltilen avidin tüm kuyucuklara 100 µl olacak şekilde yerleştirilmiş ve 30 dakika inkübe edilmiştir.

30 dakika sonrasında yıkanıp kurulanan ELISA plakası kuyucuklarına, kuyucuklarda renk oluşumunu sağlayan ABTS likiti 100 µl olacak şekilde yerleştirilmiştir. Oluşan renk yoğunluklarının miktarının tespiti için plaka okuyucuya⁹

⁹ ThermoScientific Multiscan FC

yerleştirilmiştir. Okuyucuda 620 nm'lik dalga boyunda renk analizi program¹⁰ üzerinden yapılarak konsantrasyonlar hesaplanmıştır.

Renk oluşumu 15, 20 ve 25. dakikalarda ayrı ayrı ölçülmüştür.

HBD-3 analizi için plakalara yakalama antikoru eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 gece bekletilmiştir. Sonraki gün kuyucuklar 4 defa 300 µl tampon sıvısıyla yıkanmış ve kurulanmıştır. Tabakadaki kuyucuklar 300 µl blok tampon solüsyonuyla doldurulmuş ve 1 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra tabakadaki kuyucuklar 4 defa 300 µl tampon sıvısıyla yıkanmış ve kurulanmıştır.

Standart solüsyonları 4000 pg/ml'dan, 15,6 pg/ml'e kadar dilüe edilmiştir. Her bir dilüsyon standart oluşturma için dublike olacak şekilde tabakanın sol tarafındaki kuyucuklara yerleştirilmiştir.

Tükürük ve serum örnekleri ile standartlar oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir.

Inkübasyon sonrasında kuyucuklar 4 defa 300 µl tampon sıvısıyla yıkanmış ve kurulanmıştır. Oluşan kimyasal reaksiyonun tespiti için ikincil antikor olan tespit antikorları plakadaki kuyucuklara konulmuş ve 1 saat inkübe edilmiştir.

Inkübasyon sonrasında kuyucuklardaki tespit antikoru yıkanmış ve kurulanmıştır. Kurulanan plakaya eklenmek üzere avidin-HRP konjugatı 5,5 µl Avidin

¹⁰ Skanit RE 4.1

ve 11 µl diluent olacak şekilde seyreltilmiştir. Seyreltilen avidin tüm kuyucuklara 100 µl olacak şekilde yerleştirilmiş ve 30 dakika inkübe edilmiştir.

30 dakika sonrasında yıkanıp kurulunan ELISA plakası kuyucuklarına, kuyucuklarda renk oluşumunu sağlayan ABTS likiti 100 µl olacak şekilde yerleştirilmiştir. Oluşan renk yoğunluklarının miktarının tespiti için plaka okuyucuya¹¹ yerleştirilmiştir. Okuyucuda 620 nm'lik dalga boyunda renk analizi program¹² üzerinden yapılarak konsantrasyonlar hesaplanmıştır.

Renk oluşumu 15, 20 ve 25. dakikalarda ayrı ayrı ölçülmüştür.

5.5.2. Tükürük Örneklerinde Protein Tayini

Tükürükte protein tayini Pierce BCA protein kiti¹³ ile yapılmıştır. Firmanın talimatlarına uygun olarak mikroplaka yöntemi uygulanmıştır.

Tükürük örnekleri 3 µl tükürük örneği +57 µl distile su olacak şekilde 1:20 oranında dilüe edilmiştir.

¹¹ ThermoScientific Multiscan FC

¹² Skanit RE 4.1

¹³ ThermoScientific No: 23225 and 23227

25 µl'lik örnekler tabakadaki kuyucuklara yerleştirilmiştir. 200 µl WR (Working Reagent) kuyucuklara eklenerek 30 saniye boyunca plaka karıştırıcı üzerinde örnekler ile WR'ın karışması sağlanmıştır. Plaka 37C'de 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrasında plaka, 569 nm dalgaboyunda plaka okuyucu¹⁴ tarafından okunup, protein miktarları bilgisayar programıyla¹⁵ hesaplanmıştır.

5.5.3. Dişeti Örneklerinin İmmünohistokimyasal Analizi

Parafin bloklardaki doku örnekleri 5 µm kalınlığında kesitler halinde kesilmiş ve immünohistokimya işlemleri için lamlara yerleştirilmiştir. Kesitler deparafinize edildi ve Hematoksilen-Eozin (HE), hBD-1¹⁶, hBD-2¹⁷ ve hBD-3¹⁸ için boyanmıştır. İmmünohistokimyasal boyamalar, rutin prosedürler kullanılarak otomatik bir immün boyayıcı¹⁹ ile gerçekleştirilmiştir. Sonrasında örnekler mikrodalgada ve sitrat tampon (pH 6.0) içerisinde antijen dönüşünden sonra, endojen peroksidaz %3 H₂O₂ ile bloke edilmiştir.

¹⁴ ThermoScientific Multiscan FC

¹⁵ Skanit RE 4.1

¹⁶ PA5-94990, Invitrogen

¹⁷ bs-4307R, Bioss Antibodies

¹⁸ PA1-4216, Invitrogen

¹⁹ TechMate, DAKO, Glostrup, Denmark

Birincil antikor, streptavidin-horseradish peroksidaz ile birleştirilmiş biyotinlenmiş bir ikincil antikor²⁰ tarafından saptanmış ve HRP tamponu²¹ 3,3'diaminobenzidin tetrahidroklorür ile görselleştirilmiştir. Negatif kontrol olarak, primer antikorlar olmadan immünohistokimyasal boyamalar yapılmıştır.

HE ile boyanan örnekler doku morfolojisinin tayini ve hBD-1, 2 ve 3 analizlerinde kullanılacak alanların tespiti için x10 büyütme altında ışık mikroskopunda²² incelenmiştir. İncelenen örneklerin görüntüleri program²³ aracılığıyla yüksek çözünürlükte (2048 x 1536 piksel) JPEG ve TIFF formatında bilgisayara kaydedilmiştir.

HBD-1, 2 ve 3 boyamaları x20 büyütme altında incelendi ve dokuların boyanma yoğunlukları bilgisayar programıyla²⁴ hesaplanıp kaydedilmiştir.

²⁰ Dako REALTM Detection System, K5001, Dako, Glostrup, Denmark

²¹ Dako REALTM Detection System, K5001, Dako, Glostrup, Denmark

²² Leica DMLB, Leica, Wetzlar, Germany

²³ Leica DC 300 V 2.0 Leica, Wetzlar, Germany

²⁴ Image Java IHC tool

5.5.4. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler bir yazılım²⁵ tarafından yürütülmüştür. Kolmogorov-Smirnov testi ve histogramlar ile sürekli verilerin veri dağılım analizlerinin ardından, gruplar arasındaki fark düzeyi iki örneklemli t testi (yaş, tüm ağız SCD, Pİ, ve doku örnekleme bölgesi Pİ, SKİ ve SCD) veya Mann-Whitney U testi (tüm ağız Pİ ve SKİ skorları ve tükürük ve serum hBD seviyeleri) ile belirlenmiştir. Gruplar arasındaki cinsiyet farklılıklarını karşılaştırmak için Ki-Kare testi kullanılmıştır. Retinoik asit ve kontrol grupları arasında tükürük hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'ün ayarlanmamış ve ayarlanmış (%SKİ) farklılıklarını analiz etmek için tek değişkenli genel doğrusal model kullanılmıştır. Modelin uygulanmasından önce tüm bağımlı değişkenler (tükürük hBD-1, hBD-2, hBD-3) logaritmik olarak dönüştürülmüştür. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

²⁵ IBM SPSS Statistics 27

6. BULGULAR

6.1. Sosyodemografik ve Periodontal Veriler

Çalışmamızda; sistemik ve periodontal sağlıklı kontrol grubuna 35 katılımcı ve retinoik asit kullanan periodontal sağlıklı 34 katılımcı dahil edilmiştir. Bu gruplardaki bireylerden elde edilen sosyo-demografik veriler ve klinik periodontal veriler Tablo 1’de gösterilmektedir. Grupların yaş ortalamaları kontrol grubunda yaş aralığı 18 ve 33 arasında değişmekte olup, ortalaması 25.1 ± 3.3 iken, retinoik asit grubunda 19 ve 33 arasında değişmekte olup, ortalaması 23.5 ± 3.6 olarak saptanmıştır. Yaş parametresi, gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemektedir.

Kontrol grubu 18 kadın, 17 erkek; retinoik asit grubu 18 kadın, 16 erkek katılımcı içermektedir. Cinsiyet parametresi kontrol ve retinoik asit grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir (Tablo.6.1).

Çalışmaya dahil edilen bireylerin tüm dişlerinin 4 bölgesinden ölçülüp kaydedilen periodontal ölçümler sondlanan cep derinliği (SCD), dişeti çekilmesi (DÇ), klinik ataçman kaybı (AK), plak indeksi (Pİ), sondalamada kanama indeksi (SKİ) ortalamaları hesaplanmıştır. SCD değerleri ortalaması kontrol grubunda 1.6 ± 0.2 ve retinoik asit grubunda 1.9 ± 0.2 mm olarak ölçülmüştür. SKİ % ortalamaları kontrol grubunda medyan değeri 7.6, retinoik asit grubunda ise 9.8 olarak ölçülmüştür. Katılımcıların Pİ ortalamalarına ait medyan değerleri retinoik asit grubunda 1.7 iken kontrol grubunda 0.2 olarak saptanmıştır. Hesaplanan AK değerleri ortalama olarak retinoik asit grubunda 0.017 ± 0.045 mm, kontrol grubunda ise 0.03 ± 0.15 mm’dir (Tablo.1).

Ağızdaki tüm dişlerin 4 bölgesinden alınan Pİ %, SKİ % ve SCD değerleri retinoik asit grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olarak saptanmıştır. Doku örnekleme bölgelerinde kaydedilen Pİ % ve SCD retinoik asit grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek olarak bulunmuştur (Tablo 6.1).

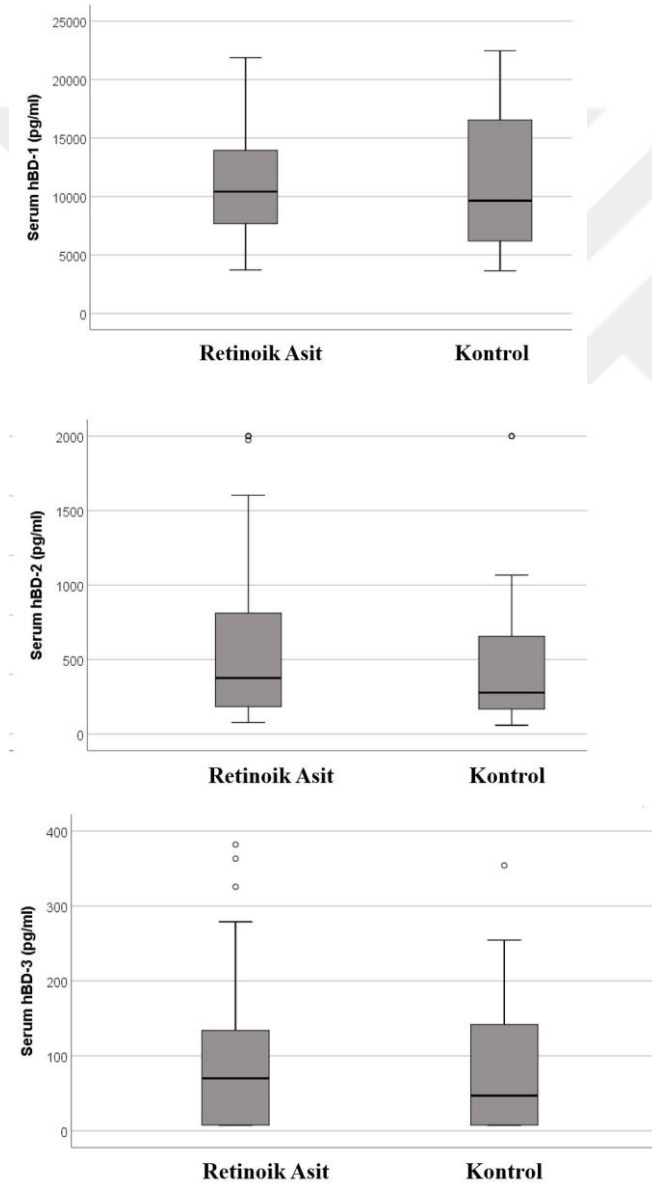


Tablo 6.1: Sosyodemografik ve periodontal veriler.

Sosyodemografik veriler	Retinoik Asit n=34	Kontrol n=35	<i>p</i>
Yaş (ortalama $\pm$ s.s.)	23.5 $\pm$ 3.6	25.1 $\pm$ 3.3	0.065
Cinsiyet (erkek %)	44.1	48.6	0.811
Retinoik asit kullanımı (ay sayısı ortalama $\pm$ st.sap.)	4.35 $\pm$ 0.73	-	-
Tüm ağız periodontal indeksler			
Pİ (meydan, 25-75%)	1.7, 1.6-2.03	0.2, 0-0.5	<0.001
SKİ% (medyan, 25-75%)	9.8, 8.03-11.8	7.6, 5.2-9.3	0.002
SCD, mm (ortalama $\pm$ st.sap.)	1.9 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.2	<0.001
AK, mm (ortalama $\pm$ st.sap.)	0.017 $\pm$ 0.045	0.03 $\pm$ 0.15	0.586
Dişeti Örneklerinin Alındığı Dişlerin Periodontal İndeksleri			
Pİ (ortalama $\pm$ st.sap.)	1.53 $\pm$ 0.64	0.75 $\pm$ 0.66	<0.001
SKİ% (ortalama $\pm$ st.sap.)	0	0	-
SCD, mm (ortalama $\pm$ st.sap.)	2.01 $\pm$ 0.47	1.63 $\pm$ 0.52	0.002

6.2. Serum HBD-1, -2, ve -3 Seviyeleri

Kontrol ve retinoik asit gruplarının serum hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 konsantrasyonları Şekil.6.1'de sunulmuştur. Kontrol grubuna kıyasla sistemik retinoik asit kullanıcıları arasında serum hBD-1 ($p = 0.900$), hBD-2 ($p = 0.544$) ve hBD-3 ($p = 0.442$) konsantrasyonlarında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

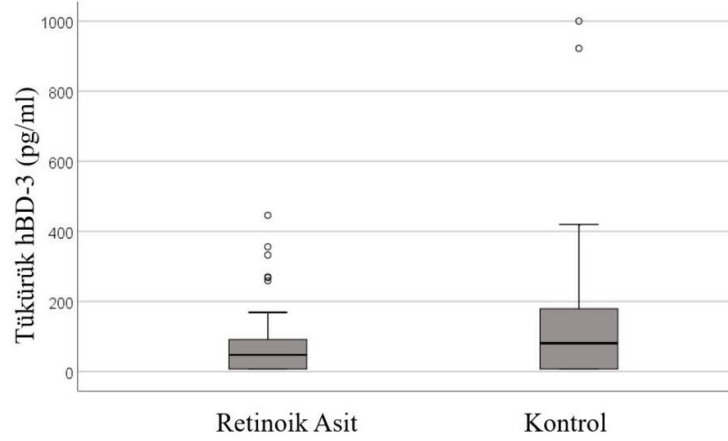
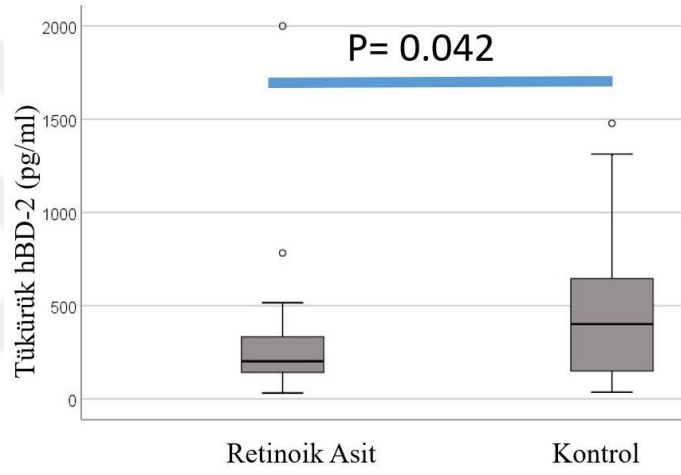
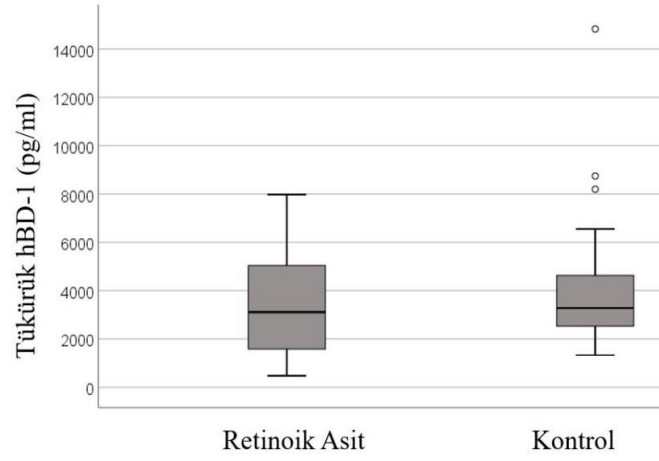


Şekil 6.1: Retinoik asit ve kontrol grubuna ait serum hBD-1,2 ve -3 konsantrasyonları. Gruplar arası farklılıklar Mann-Whitney U testi ve iki örneklemlili t testi kullanılarak belirlenmiştir.

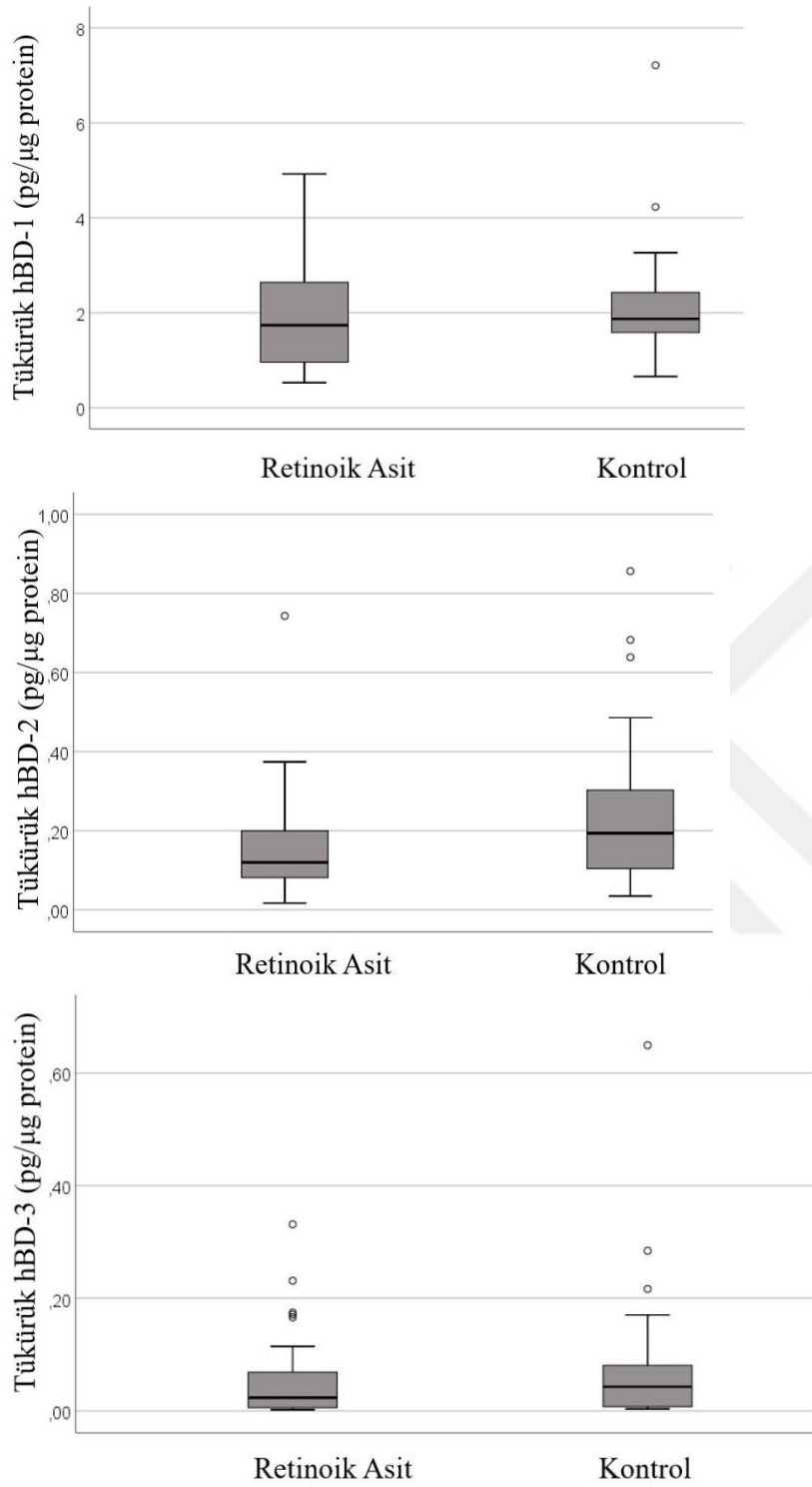
6.3. Tükürük HBD-1, -2, ve -3 Seviyeleri

Kontrol ve retinoik asit gruplarının tükürük hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 konsantrasyonlarına ait kutu grafikleri Şekil 6.2'de sunulmuştur. Sistemik retinoik asit kullananlarda tükürük hBD-2 konsantrasyonları sistemik olarak sağlıklı katılımcılara göre istatistiksel olarak daha düşük seviyede olduğu ($p=0,042$) bulunmuştur. Tükürük hBD-1 ve hBD-3 konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu fark tükürük hBD-2 konsantrasyonları toplam protein seviyeleriyle orantılı olarak değerlendirildiğinde kaybolmuştur. (Şekil 6.3) Gruplar arasında tükürük hBD-1 ($p = 0.343$) ve hBD-3 ($p = 0.329$) konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Kontrol ve retinoik asit gruplarında istatistiksel olarak fark bulunan Tükürük hBD-2 seviyesi ile sondlamada kanama indeksi (SKİ) arasındaki ilişkiyi tespit edebilmek için tek değişkenli genel lineer model kullanılmıştır. Yapılan regresyon analizine göre gruplar arasında saptanan sondlamada kanama indeksi ve tükürük hBD-2 seviyeleri arasındaki istatistiksel farkın birbirinden bağımsız değişkenler olduğu saptanmıştır. Tükürük hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 konsantrasyonlarının ayarlanmamış ve ayarlanmamış (SKİ%) karşılaştırmaları Tablo 6.2'de sunulmuştur.



Şekil 6.2: Retinoik asit ve kontrol grubuna ait tükürük hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 konsantrasyonları. Gruplar arası farklılıklar Mann-Whitney U testi ve iki örneklemli t testi kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 6.3: Retinoik asit ve kontrol grubuna ait toplam tükürük protein miktarına orantılanmış tükürük hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 konsantrasyonlarının karşılaştırması. Gruplar arası farklılıklar Mann-Whitney U testi ve iki örneklemlili t testi kullanılarak belirlenmiştir.

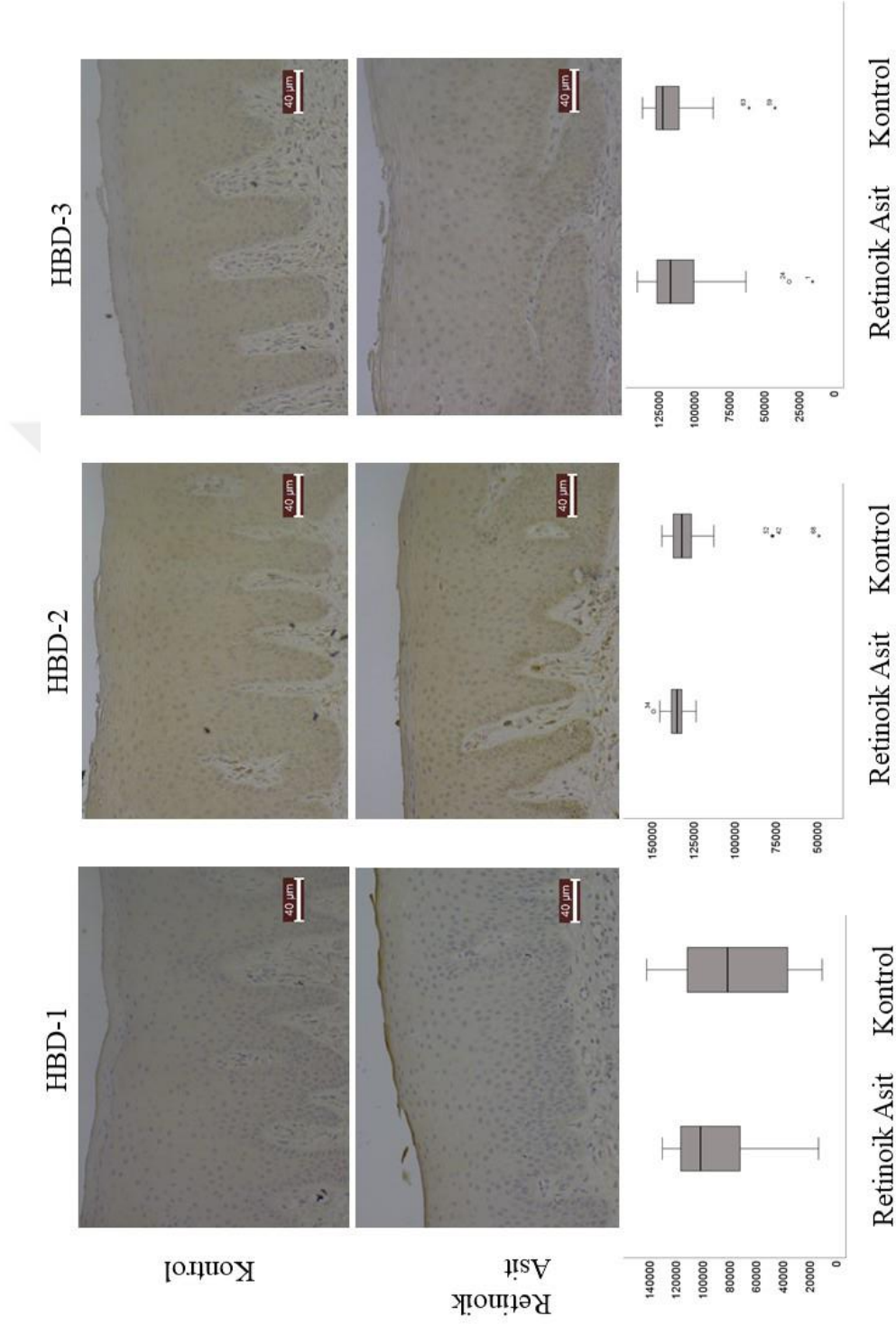
Tablo 6.2: Retinoik asit ve kontrol grupları arasında tükürük hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'ün ayarlanmamış ve ayarlanmış (%SKİ) farklılıkları.

	Ayarlanmış	Ayarlanmamış (SKİ%)
Tükürük hBD-1	F=2.671, p=0.107	F=2.597, p=0.112
Tükürük hBD-2	F=5.786, p=0.019	F=4.835, p=0.031
Tükürük hBD-3	F=0.815, p=0.370	F=1.648, p=0.204
Toplam tükürük protein miktarına oranlanmış tükürük hBD-1 (pg/µg protein)	F=1.199, p=0.277	F=0.254, p=0.616
Toplam tükürük protein miktarına oranlanmış tükürük hBD-2 (pg/µg protein)	F=3.571, 0.063	F=2.838, 0.097
Toplam tükürük protein miktarına oranlanmış tükürük hBD-3 (pg/µg protein)	F=0.415, p=0.522	F=0.658, p=0.420

6.3. Dişeti hBD-1,-2, ve -3 Seviyeleri

Dişeti dokusu örneklerinin hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'ün boyama yoğunluğu Şekil 6.4'de gösterilmektedir. Katılımcılar arasında sağlıklı bireylere kıyasla sistemik retinoik asit kullanıcılarında doku hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 boyama yoğunluklarında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. (hBD-1 $p=0,1$; hBD-2 $p=0,061$; hBD-3 $p=0,254$).

hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 antikorlarıyla boyanan ve ışık mikroskopuyla x20 büyütme oranıyla görüntülenip, fotoğrafları elde edilen örneklerden bazıları doku morfolojisini ve boyanma yoğunluklarını temsil etmesi amacıyla Şekil 6.4'de gösterilmiştir. Retinoik asit ve kontrol grupları arasında dokulardaki boyanma yoğunlukları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.



Şekil 6.4: Kontrol ve retinoik asit gruplarında dişeti doku örneklerinde hBD-1, hBD-2, ve hBD-3 boyanma yoğunlukları. Gruplar arası farklılıklar Mann-Whitney U testi ve iki örneklemlili t testi kullanılarak belirlenmiştir.

7. TARTIŞMA

Periodontal sağığın idamesinde dişeti epitelinin bütünlüğü önem taşımaktadır (16). Dişeti epiteli, fiziksel bariyer özellikleri ve keratinositler tarafından salgılanan hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere, mantarlara ve virüslere karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergileyen beta defensinler sayesinde periodontal savunma sisteminin önemli bir elemanıdır (74)(116). Retinoik asitin epitel ve mukozanın homeostazı ve immün cevabın sürdürülmesindeki etkileri periodontal immünolojideki rolüne dikkat çekmektedir (8,9).

Elde ettiğimiz sonuçlara göre düzenli retinoik asit kullanımı tükürükte azalmış hBD-2 konsantrasyonları ile ilişkili bulunmuştur. Bu sonucun yanısıra, serum ve dişeti dokusu hBD düzeylerinin sistemik retinoik asit kullanımından etkilenmediğı sonucuna vardık. Bilgilerimiz dahilinde bu çalışma, sistemik retinoik asit kullanımının serum, tükürük ve diş eti dokusu hBD-1,-2 ve -3 seviyeleri üzerindeki etkisini değerlendiren ilk çalışmadır.

Bu çalışmanın temel gücü, serum, tükürük ve dişeti dokusu hBD düzeylerinin eş zamanlı olarak belirlenmesidir. Bu yaklaşım, retinoik asit kullanımının sistemik ve oral etkilerini gözlemleme fırsatı sağlamıştır. Çalışmamızda morfogenez, keratinosit proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli rol oynayan retinoik asidin periodontal dokular üzerindeki etkisinin incelenmesi, periodontal sağık üzerindeki etkisinin aydınlatılmasına olanak sağlamaktadır. Hücresel etkilerinin yanı sıra dermatoloji kliniğinde sıkça kullanılan retinoik asitlerin oral kaviteye ve periodonsiyuma etkisini gözlemlemek klinikte karşımıza sıkça çıkabilecek hasta grubuna karşı bilgi sahibi olmamızı sağlamaktadır.

Çalışmamızın demografik verilerine göre, yaş ortalamalarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemektedir (Tablo.1). Kontrol ve retinoik asit grubuna dahil edilen bireylerin hepsinin periodontal olarak sağıklı katılımcılardan

oluşması grupların genç popülasyondan oluşmasını açıklayabilmektedir (117). Ayrıca, akne vulgaris tedavisi için oral isotretinoin kullanan hastaların çoğunlukla 15-25 yaş aralığında olması retinoik asit grubunun yaş ortalamasını açıklar niteliktedir (109). Çalışmamıza dahil ettiğimiz kontrol ve retinoik asit grubundaki katılımcıların cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. (Tablo.6.1)

Periodontal klinik verilerin sonuçlarına göre, RA grubu sondalanan cep derinliği, sondlamada kanama indeksi ve plak indeksi skor ortalamalarında kontrol grubuna göre anlamlı fark göstermiştir (Tablo.6.1). Bunun sebebi, sistemik retinoik asit kullanan bireylerdeki azalan tükürük miktarıyla birlikte tükürüğün oral kavitedeki antimikrobiyal etkisinin ve yıkama etkisinin azalmasıyla ilişkilendirilebilir (118). Tükürük, ağız sağlığının korunması ve kontrolünde birçok işleve sahiptir: Oral mukozayı koruyup ve kayganlaştırmakta, ağız içindeki asidik değişimlerine karşı tampon görevi görmektedir, immünolojik ve immünolojik olmayan bileşenleri ile antimikrobiyal aktiviteye göstermektedir (119). Geleneksel radyoterapi sonrasında görülen yan etkileri inceleyen bir vaka kontrol çalışmasında, çalışmamızdaki sonuçlara benzer şekilde ağız kuruluğu olan hastaların kontrol grubuna göre daha yüksek sondlamada kanama indeks ortalamalarına sahip oldukları bildirilmiştir (120). Bu verilere göre sistemik retinoik asit kullanımının periodontal sağlıklı hasta tanımı içerisinde sondlamada kanamayı arttırdığını söylemek mümkündür (45).

Doğuştan gelen immün cevap sürecinde önemli bir rol oynayan beta defensinler, sağlıklı dişeti homeostazının korunmasında önemli role sahiptirler(59). Beta defensinler insan dişeti epiteli, bağ dokusu, serum ve tükürük gibi vücut sıvılarında izole edilmiş olmasına rağmen, ekspresyon paternleri ve periodontal enflamasyondaki işlevleri netlik kazanmamıştır (66)(121). Sonuçlarımıza göre, retinoik asit kullanıcılarında tükürük hBD-2 konsantrasyonları azalırken, tükürük hBD-1 ve hBD-3 düzeylerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Yaptığımız literatür araştırmasına göre sistemik retinoik asit kullanımına ilişkin tükürük hBD konsantrasyonlarını tanımlayan başka bir çalışma olmadığı için bulgularımızı deri

epiteli çalışmalarının sonuçlarıyla karşılaştırdık. Harder ve arkadaşlarına göre, cilt keratinositlerinin all-trans retinoik asit ile tedavisi proenflamatuar sitokinler ve *P. aeruginosa* ile indüklenen hBD-2, -3 ve -4 gen ekspresyonunu aşağı regüle ederken, hBD-1 düzeylerini etkilememiştir. Bu bulgular, bizim sonuçlarımızla paralel olacak şekilde, retinoik asidin epiteldeki hBD-2 ekspresyonunu çeşitli kaynaklarla baskılayabileceğini göstermektedir. Yine çalışmadaki sonuçlarımıza benzer bir şekilde, isotretinoin tedavisi öncesi ve sonrasında hastalardan alınan deri biyopsilerinde kütanöz hBD-2 seviyeleri azalırken, hBD-1 seviyelerinde herhangi bir fark olmadığı bildirilmiştir (112). Bu sonuçlar ışığında enflamasyonda artan hBD-2 seviyelerinin, retinoik asit etkisiyle baskılandığı söylenebilir (122).

Epidermal ve gingival keratinosit kültürlerinde K19 keratinlerinin ekspresyonunu inceleyen bir çalışmada, dişeti epitelinde RAR α ve RAR β reseptörlerinin hücresel cevabın düzenlenmesinde rol aldığı bildirilmiştir (123). Embriyonik gelişimde önemli rolü olan retinoik asitlerin, tükürük bezlerinde bulunan RAR α ve RAR β reseptörleri ile tükürük bezlerinin gelişiminde ve fonksiyonunun sürdürülmesinde görev almaktadır (124). Bu bilgilerin ışığında oral kavitedeki hBD'lerin kaynaklarından olan tükürük bezleri ve dişeti epitelinde retinoik asit reseptörlerinin bulunması, retinoik asitin bu dokularda oluşabilecek hBD ekspresyonundaki etkisini açıklayabilmektedir.

Sonuçlarımıza göre tükürük sonuçlarımızdan farklı olarak sistemik retinoik asit kullanımının serum hBD düzeylerine etkisi olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil.6.1). Tükürük yapısında yüksek oranda su ve serumun bileşenlerini taşıırken, aynı zamanda oral yerleşik ve immün hücre proteinleri, mikroorganizmalar ve diş eti oluğu sıvısını da içermektedir. Serumdaki vitaminler ve vitaminleri taşıyan proteinler arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, serumdaki retinol konsantrasyonu ile retinol binding protein (RBP) konsantrasyonları arasında doğrusal bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (125). Bu bulgular, tükürük hBD-2 seviyesinde gözlemlediğimiz farkı serumda görememizi açıklayabilmektedir. Tükürük, majör ve minör tükürük bezlerinin salgılarını, dişeti oluğu sıvısını, oral mukoza epitel hücrelerini, bronşiyal salgıları ve

ağızdaki yaralardan gelen bazı serum hücreleri içeren bir karışımdan oluşurken, serumun dış ortama kapalı steril yapısı hBD seviyesindeki farkı yalnızca tükürükte gözlemlememizi açıklar niteliktedir (126).

Oral kavitedeki beta defensinler, tükürük bezleri, dişeti epiteli ve oral mukozadan kaynak almaktadır. Dişeti beta defensinleri, epitel hücreleri tarafından üretilip, ağız boşluğuna salınmaktadır (127). Dişeti epitelinde bulunan hücresel cevabın düzenlenmesindeki rol alan RAR α ve RAR β retinoik asitlerin nükleer reseptörleridir (124). Serumda RBP'lere, dokuda ise retinoik asit reseptörlerine tutunan retinoik asitin dişetindeki direkt etkisini gözlemleyebilmek amacıyla gingival biyopsiler kullanılmıştır. İmmünohistolojik analizimiz sonucunda, retinoik asit grubu ile kontrol grubu arasında doku hBD seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil.6.4). Epiteldeki hBD salınımı birçok çevresel ve sistemik uyaranla artmaktadır (90)(128)(129). Çalışmaya dahil edilen katılımcıların hepsinin periodontal sağlıklı hastalardan oluşması ve hBD salınımı provoke edecek bir etken olmaması doku hBD seviyesinde fark bulmamamızı açıklayabilmektedir. ELISA yöntemine kıyasla, immünohistolojik analiz semikuantitatif bir yöntemdir. Serum ve tükürük örneklerimizde hBD seviyelerini değerlendirdiğimiz ELISA yönteminde konsantrasyon ölçülürken, immünohistolojik analizde dokuların boyanma yoğunlukları bilgisayar yazılımı tarafından ölçülmüştür. Uygulanan yöntemlerin farklı olması dokuda beklediğimiz farkı görmemizin önüne geçen etkenlerden birisi olabilir. Yine de, bu çalışmanın çalışma popülasyonu periodontal olarak sağlıklı bireylerden oluştuğundan, Th17 farklılaşması ve IL-17 ekspresyon profilleri farelerdeki deneysel periodontitis modellerinden farklı olması olağandır.

Deneysel bir periodontitis modeli çalışmasında, all-trans retinoik asit (ATRA) periodontal dokulardaki enflamatuvar hücre yoğunlaşmasını azalttığı ve alveolar kemik yıkımını baskıladığı gösterilmiştir. Bu çalışmaya göre ATRA bahsedilen anti-enflamatuvar etkisini, periodontal hastalık patogenezinde de önem taşıyan Th17/Treg dengesinin modülasyonu ile sağlamaktadır. ATRA'nın toplam CD4⁺ T hücreleri içinde CD4⁺Foxp3⁺ (Treg) T hücrelerinin yüzdesini artırırken, CD4⁺ROR γ t⁺ (Th17)

hücrelerinin yüzdesini ve sayısını azaltması, IL-17A ekspresyonunu azaltması ve IL-10 ve TGF- β 1 salınımının yukarı regülasyonuna sebep olması retinoik asitlerin periodontal hastalık patogeneziindeki rolüne ışık tutmaktadır (12).

Daha önce yapılan çalışmalarda sadece otoimmün hastalıklar için değil aynı zamanda periodontal immunoloji için de oldukça etkili rol oynayan IL-17'nin, hBD-2 ekspresyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (130). Bu bilgiler ışığında retinoik asitin Th17/Treg dengesine ve dolayısıyla oral kaviteye tükürük bezleri, epitel artıkları, serum, dişeti oluğu sıvısı ve oral mukozadan geldiği varsayılan hBD konsantrasyonuna etkisi olduğu varsayılabilmektedir.

Çalışmanın ana sınırlamasını, retinoik asit alımı ile hBD ekspresyonu arasındaki neden-sonuç ilişkilerini göstermemize izin vermeyen kesitsel çalışma tasarımıdır. Ayrıca, tükürük akışındaki retinoik asit kullanımına bağlı değişiklikler nedeniyle tükürük toplama süresi standardize edilememiştir(118). Bu sınırlamadan kaçınmak için, tespit edilen defensin konsantrasyonları, toplam tükürük protein içeriği ile oranlanarak normalleştirilmiştir. Bununla birlikte, protein içeriği ile normalleştirme tükürüğün içinde bulunan müsinlerden dolayı dezavantajlı olabilmekte ve her tükürük belirteci için uygun olmayabilmektedir (131). Bu nedenle sonuçlar hem gerçek tükürük konsantrasyonları hem de toplam protein içeriği ile normalize edilmiş konsantrasyonlar olarak sunulmuştur (Şekil.6.1, Şekil.6.2).

Son olarak, çalışma grupları periodontal olarak sağlıklı katılımcılardan oluşmasına rağmen, SKİ yüzdesinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir. Tükürük hBD-2 seviyesinde gruplar arasında bulunan farkın, sondlamada kanama indeksindeki farkla ilişkili olup olmadığını anlamak için tek değişkenli regresyon modeli kullanılmıştır (Tablo.6.2). Yapılan analizin sonuçlarına göre sondlamada kanama indeksinde bulunan fark ile tükürük hBD-2 seviyesindeki gruplar arası farkın birbirinden bağımsız değişkenler olduğu, tükürükteki hBD-2 farklılığının başka bir nedene bağlı olduğu sonucuna varılabilmektedir. Katılımcıların tamamı sistemik ve

periodontal sağlıklı bireylerden oluştuğu için, tükürük hBD-2 seviyesindeki bu farkın retinoik asit kullanımıyla ilişkili olduğunu varsayabiliriz.



8. SONUÇ

Elde ettiğimiz sonuçlara göre;

- Düzenli retinoik asit kullanımı tükürükte azalmış hBD-2 konsantrasyonları ile ilişkili bulunmuştur.

-Serum ve dişeti dokusu hBD düzeylerinin sistemik retinoik asit kullanımından etkilenmediği bulunmuştur.

-Retinoik asitin hücrese düzeyde periodontal sağlığın korunmasında pozitif etki gösterebileceği düşünülmektedir.

Bu kesitsel çalışmanın sınırları içinde, sistemik retinoik asit kullanımının baskılanmış tükürük hBD-2 seviyeleri ile ilişkili olduğu iddia edilebilir. Periodontitis hastaları ve sigara içenleri içeren daha ileri boylamsal çalışmalar, sistemik retinoik asit kullanımının periodontal sağlık üzerindeki yararlı ve zararlı etkilerini aydınlatmamıza yardımcı olacaktır.

9. KAYNAKLAR

1. Darveau RP, Page ROYC. Life in the gingiva (an evolutionary adaptation)
Dental plaque as a biofilm. *Periodontol 2000*. 2000;14(79):12–32.
2. Presland RB, Jurevic RJ. Making Sense of the Epithelial Barrier: What
Molecular Biology and Genetics Tell Us About the Functions of Oral Mucosal
and Epidermal Tissues. *J Dent Educ*. 2002;66(4):564–74.
3. Newman, Michael G., Takei, Henry H., Klokkevold PR. Newman and
Carranza's Clinical Periodontology Thirteenth Edition. *J Chem Inf Model*
[Internet]. 2017;53(9):1689–99. Available from:
file:///C:/Users/User/Downloads/fvm939e.pdf
4. Dommisch H, Staufienbiel I, Schulze K, Stiesch M, Winkel A, Fimmers R, et al.
Expression of antimicrobial peptides and interleukin-8 during early stages of
inflammation: An experimental gingivitis study. *J Periodontal Res*.
2015;50(6):836–45.
5. Gursoy UK, Könönen E. Understanding the roles of gingival beta-defensins. *J*
Oral Microbiol. 2012;4(2012):1–10.
6. Dommisch H, Skora P, Hirschfeld J, Olk G, Hildebrandt L, Jepsen S. The
guardians of the periodontium—sequential and differential expression of
antimicrobial peptides during gingival inflammation. Results from in vivo and
in vitro studies. *J Clin Periodontol*. 2019;46(3):276–85.
7. Raina M, , Amber M. Bates, Carol L. Fischer, Ann Progulske-Fox TA, Shireen

Vali and KAB. HBD3 alters matrix metalloproteinase production in human dendritic cells exposed to *Porphyromonas gingivalis* hemagglutinin B (HagB). *J Periodontol.* 2018;89(3):361–369.

8. Mora JR, Iwata M, von Andrian UH. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol.* 2008 Sep;8(9):685–98.
9. Cassani B, Villablanca EJ, De Calisto J, Wang S, Mora JR. Vitamin A and immune regulation: role of retinoic acid in gut-associated dendritic cell education, immune protection and tolerance. *Mol Aspects Med.* 2012 Feb;33(1):63–76.
10. Barbul A, Thysen B, Rettura G, Levenson SM, Seifter E. White cell involvement in the inflammatory, wound healing, and immune actions of vitamin A. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1978 May;2(2):129–38.
11. Park J-A, Lee J-H, Lee H-J, Jin B-H, Bae K-H. Association of Some Vitamins and Minerals with Periodontitis in a Nationally Representative Sample of Korean Young Adults. *Biol Trace Elem Res.* 2017 Aug;178(2):171–9.
12. Wang L, Wang J, Jin Y, Gao H, Lin X. Oral Administration of All- Trans Retinoic Acid Suppresses Experimental Periodontitis by Modulating the Th17/Treg Imbalance . *J Periodontol.* 2014;85(5):740–50.
13. Hore TA. Modulating epigenetic memory through vitamins and TET: implications for regenerative medicine and cancer treatment. *Epigenomics.* 2017 Jun;9(6):863–71.

14. Harder J, Meyer-Hoffert U, Wehkamp K, Schwichtenberg L, Schröder JM. Differential gene induction of human β -defensins (hBD-1, -2, -3, and -4) in keratinocytes is inhibited by retinoic acid. *J Invest Dermatol*. 2004;123(3):522–9.
15. Hatakeyama S, Hayashi S, Yoshida Y, Otsubo A, Yoshimoto K, Oikawa Y, et al. Retinoic acid disintegrated desmosomes and hemidesmosomes in stratified oral keratinocytes. *J Oral Pathol Med*. 2004;33(10):622–8.
16. Groeger S, Jarzina F, Windhorst A, Meyle J. Influence of retinoic acid on human gingival epithelial barriers. *J Periodontal Res*. 2016;51(6):748–57.
17. Gao Z, Mackenzie IC. Influence of retinoic acid on the expression of cytokeratins, vimentin and ICAM-1 in human gingival epithelia in vitro. *J Periodontal Res* [Internet]. 1996;31(2):81–9. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1996.tb00468.x>
18. Nishio C, Rompré P, Moldovan F. Effect of exogenous retinoic acid on tooth movement and periodontium healing following tooth extraction in a rat model. *Orthod Craniofac Res*. 2017;20(February):77–82.
19. Ainamo J, Löe H. Anatomical Characteristics of Gingiva. A Clinical and Microscopic Study of the Free and Attached Gingiva. *J Periodontol* [Internet]. 1966;37(1):5–13. Available from: <https://doi.org/10.1902/jop.1966.37.1.5>
20. B. C. Morphological factors in the pathogenesis of periodontal disease. *Br Dent J*. 1959;107(31):1–9.

21. Tarnow DP, Magner AW, Fletcher P. The effect of the distance from the contact point to the crest of bone on the presence or absence of the interproximal dental papilla. *J Periodontol.* 1992 Dec;63(12):995–6.
22. Fuchs E. Keratins and the skin. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1995;11:123–53.
23. Harris A. *Epithelial Cell Culture-*. Cambridge University Press; 1996.
24. Groeger S, Meyle J. Oral Mucosal Epithelial Cells. *Front Immunol.* 2019;10:208.
25. Barker JNWN, Griffiths CEM, Nickoloff BJ, Mitra RS, Dixit VM, Nickoloff BJ. Keratinocytes as initiators of inflammation. *Lancet.* 1991;337(8735):211–4.
26. Gemmell E, Carter CL, Hart DNJ, Drysdale KE, Seymour GJ. Antigen-presenting cells in human periodontal disease tissues. *Oral Microbiol Immunol.* 2002 Dec;17(6):388–93.
27. DiFranco CF, Toto PD, Rowden G, Gargiulo AW, Keene JJJ, Connelly E. Identification of Langerhans cells in human gingival epithelium. *J Periodontol.* 1985 Jan;56(1):48–54.
28. Righi A, Betts CM, Marchetti C, Marucci G, Montebugnoli L, Prati C, et al. Merkel Cells in the Oral Mucosa. *Int J Surg Pathol* [Internet]. 2006 Jul 1;14(3):206–11. Available from: <https://doi.org/10.1177/1066896906290053>
29. Jimbow K, Quevedo WCJ, Fitzpatrick TB, Szabo G. Some aspects of melanin

biology: 1950-1975. J Invest Dermatol. 1976 Jul;67(1):72–89.

30. Hirobe T. Role of keratinocyte-derived factors involved in regulating the proliferation and differentiation of mammalian epidermal melanocytes. Pigment cell Res. 2005 Feb;18(1):2–12.
31. Mackenzie IC, Rittman G, Gao Z, Leigh I, Lane EB. Patterns of cytokeratin expression in human gingival epithelia. J Periodontal Res [Internet]. 1991;26(6):468–78. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1991.tb01797.x>
32. Lu quian. Expression and regulation of human β -defensins in gingival epithelia. Univ Hong Kong. 2006;Doktora te:1–30.
33. H. T. Permeability of the gingival pocket epithelium. Int Dent J. 1964;14:416–21.
34. BARTOLD PM, WALSH LJ, NARAYANAN AS. Molecular and cell biology of the gingiva. Periodontol 2000 [Internet]. 2000;24(1):28–55. Available from: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2240103.x>
35. L  e H, Karring T. A quantitative analysis of the epithelium-connective tissue interface in relation to assessments of the mitotic index. J Dent Res. 1969;48(5):634–40.
36. Galan JE, Zhou D. Striking a balance: modulation of the actin cytoskeleton by Salmonella. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Aug;97(16):8754–61.

37. Sonoda N, Furuse M, Sasaki H, Yonemura S, Katahira J, Horiguchi Y, et al. Clostridium perfringens enterotoxin fragment removes specific claudins from tight junction strands: Evidence for direct involvement of claudins in tight junction barrier. J Cell Biol. 1999 Oct;147(1):195–204.
38. Amagai M, Matsuyoshi N, Wang ZH, Andl C, Stanley JR. Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. Nat Med. 2000 Nov;6(11):1275–7.
39. Groeger SE, Meyle J. Epithelial barrier and oral bacterial infection. Periodontol 2000. 2015 Oct;69(1):46–67.
40. Dabija-Wolter G, Bakken V, Cimpan MR, Johannessen AC, Costea DE. In vitro reconstruction of human junctional and sulcular epithelium. J oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol. 2013 May;42(5):396–404.
41. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. Periodontol 2000. 1997 Jun;14:33–53.
42. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis in Man. J Periodontol [Internet]. 1965;36(3):177–87. Available from: <https://doi.org/10.1902/jop.1965.36.3.177>
43. Bosshardt DD, Lang NP. The junctional epithelium: from health to disease. J Dent Res. 2005 Jan;84(1):9–20.

44. Fujita T, Yoshimoto T, Kajiya M, Ouhara K, Matsuda S, Takemura T, et al. Regulation of defensive function on gingival epithelial cells can prevent periodontal disease. *Jpn Dent Sci Rev* [Internet]. 2018;54(2):66–75. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2017.11.003>
45. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018;45(December 2017):S68–77.
46. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S9–16.
47. Amano A. Disruption of epithelial barrier and impairment of cellular function by *Porphyromonas gingivalis*. *Front Biosci*. 2007 May;12:3965–74.
48. McCormick TS, Weinberg A. Epithelial cell-derived antimicrobial peptides are multifunctional agents that bridge innate and adaptive immunity. *Periodontol 2000*. 2010 Oct;54(1):195–206.
49. Ren L, Leung WK, Darveau RP, Jin L. The expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2005 Nov;76(11):1950–9.
50. Uehara A, Takada H. Functional TLRs and NODs in human gingival fibroblasts. *J Dent Res*. 2007 Mar;86(3):249–54.

51. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2001;25:8–20.
52. Bascones-Martínez A, Figuero-Ruiz E. Periodontal diseases as bacterial infection. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2004;9 Suppl:100–1.
53. Zasloff M. Innate immunity, antimicrobial peptides, and protection of the oral cavity. *Lancet* (London, England). 2002 Oct;360(9340):1116–7.
54. Dale BA, Krisanaprakornkit S. Defensin antimicrobial peptides in the oral cavity. *J oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol*. 2001 Jul;30(6):321–7.
55. Tonetti MS, Chapple ILC. Biological approaches to the development of novel periodontal therapies--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38 Suppl 1:114–8.
56. Jourdain ML, Velard F, Pierrard L, Sergheraert J, Gangloff SC, Braux J. Cationic antimicrobial peptides and periodontal physiopathology: A systematic review. *J Periodontal Res*. 2019;54(6):589–600.
57. Makeudom A, Kulpawaropas S, Montreekachon P, Khongkhunthian S, Sastraruji T, Pothacharoen P, et al. Positive correlations between hCAP18/LL-37 and chondroitin sulphate levels in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2014 Mar;41(3):252–61.
58. Wang G, Mishra B, Lau K, Lushnikova T, Golla R, Wang X. Antimicrobial peptides in 2014. *Pharmaceuticals* (Basel). 2015 Mar;8(1):123–50.

59. Dommisch H, Jepsen S. Diverse functions of defensins and other antimicrobial peptides in periodontal tissues. *Periodontol 2000*. 2015;69(1):96–110.
60. Quayle AJ, Porter EM, Nussbaum AA, Wang YM, Brabec C, Yip KP, et al. Gene expression, immunolocalization, and secretion of human defensin-5 in human female reproductive tract. *Am J Pathol*. 1998 May;152(5):1247–58.
61. Ganz T. Extracellular release of antimicrobial defensins by human polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun*. 1987 Mar;55(3):568–71.
62. Dunsche A, Açı Y, Siebert R, Harder J, Schröder JM, Jepsen S. Expression profile of human defensins and antimicrobial proteins in oral tissues. *J oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol*. 2001 Mar;30(3):154–8.
63. Yang D, Chen Q, Chertov O, Oppenheim JJ. Human neutrophil defensins selectively chemoattract naive T and immature dendritic cells. *J Leukoc Biol*. 2000 Jul;68(1):9–14.
64. Befus AD, Mowat C, Gilchrist M, Hu J, Solomon S, Bateman A. Neutrophil defensins induce histamine secretion from mast cells: mechanisms of action. *J Immunol*. 1999 Jul;163(2):947–53.
65. Van Wetering S, Mannesse-Lazeroms SP, Van Sterkenburg MA, Daha MR, Dijkman JH, Hiemstra PS. Effect of defensins on interleukin-8 synthesis in airway epithelial cells. *Am J Physiol*. 1997 May;272(5 Pt 1):L888-96.
66. Dale BA, Fredericks LP. Antimicrobial peptides in the oral environment:

expression and function in health and disease. *Curr Issues Mol Biol*. 2005 Jul;7(2):119–33.

67. Dale BA, Kimball JR, Krisanaprakornkit S, Roberts F, Robinovitch M, O’Neal R, et al. Localized antimicrobial peptide expression in human gingiva. *J Periodontal Res*. 2001 Oct;36(5):285–94.
68. McKay MS, Olson E, Hesla MA, Panyutich A, Ganz T, Perkins S, et al. Immunomagnetic recovery of human neutrophil defensins from the human gingival crevice. *Oral Microbiol Immunol*. 1999 Jun;14(3):190–3.
69. Gorr S-U, Abdolhosseini M. Antimicrobial peptides and periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38 Suppl 1:126–41.
70. Yeung ATY, Gellatly SL, Hancock REW. Multifunctional cationic host defence peptides and their clinical applications. *Cell Mol Life Sci*. 2011 Jul;68(13):2161–76.
71. Diamond G, Zasloff M, Eck H, Brasseur M, Maloy WL, Bevins CL. Tracheal antimicrobial peptide, a cysteine-rich peptide from mammalian tracheal mucosa: peptide isolation and cloning of a cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 May;88(9):3952–6.
72. Lehrer RI, Ganz T. Defensins of vertebrate animals. *Curr Opin Immunol*. 2002 Feb;14(1):96–102.
73. Hoover DM, Chertov O, Lubkowski J. The structure of human beta-defensin-1: new insights into structural properties of beta-defensins. *J Biol Chem*. 2001

Oct;276(42):39021–6.

74. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2003;3(9):710–20. Available from: <https://doi.org/10.1038/nri1180>
75. Schröder JM. Epithelial antimicrobial peptides: innate local host response elements. *Cell Mol Life Sci*. 1999 Oct;56(1–2):32–46.
76. Ouhara K, Komatsuzawa H, Yamada S, Shiba H, Fujiwara T, Ohara M, et al. Susceptibilities of periodontopathogenic and cariogenic bacteria to antibacterial peptides, {beta}-defensins and LL37, produced by human epithelial cells. *J Antimicrob Chemother*. 2005 Jun;55(6):888–96.
77. Schröder JM, Harder J. Human beta-defensin-2. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999 Jun;31(6):645–51.
78. Harder J, Siebert R, Zhang Y, Matthiesen P, Christophers E, Schlegelberger B, et al. Mapping of the Gene Encoding Human β -Defensin-2 (DEFB2) to Chromosome Region 8p22–p23.1. *Genomics* [Internet]. 1997;46(3):472–5. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0888754397950746>
79. Niyonsaba F, Iwabuchi K, Matsuda H, Ogawa H, Nagaoka I. Epithelial cell-derived human beta-defensin-2 acts as a chemotaxin for mast cells through a pertussis toxin-sensitive and phospholipase C-dependent pathway. *Int Immunol*. 2002 Apr;14(4):421–6.

80. Niyonsaba F, Someya A, Hirata M, Ogawa H, Nagaoka I. Evaluation of the effects of peptide antibiotics human beta-defensins-1/-2 and LL-37 on histamine release and prostaglandin D(2) production from mast cells. *Eur J Immunol.* 2001 Apr;31(4):1066–75.
81. Niyonsaba F, Ogawa H, Nagaoka I. Human beta-defensin-2 functions as a chemotactic agent for tumour necrosis factor- α -treated human neutrophils. *Immunology.* 2004 Mar;111(3):273–81.
82. García JR, Krause A, Schulz S, Rodríguez-Jiménez FJ, Klüver E, Adermann K, et al. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2001 Aug;15(10):1819–21.
83. García JR, Jaumann F, Schulz S, Krause A, Rodríguez-Jiménez J, Forssmann U, et al. Identification of a novel, multifunctional beta-defensin (human beta-defensin 3) with specific antimicrobial activity. Its interaction with plasma membranes of *Xenopus* oocytes and the induction of macrophage chemoattraction. *Cell Tissue Res.* 2001 Nov;306(2):257–64.
84. D. Yang, O. Chertov, S. N. Bykovskaia, Q. Chen, M. J. Buffo, J. Shogan, et al. β -Defensins: Linking Innate and Adaptive Immunity Through Dendritic and T Cell CCR6. *Science* [Internet]. 1999;286(5439):525–8. Available from: <http://science.sciencemag.org.gate2.inist.fr/content/sci/286/5439/525.full.pdf>
85. Yang D, Chertov O, Oppenheim JJ. The role of mammalian antimicrobial peptides and proteins in awakening of innate host defenses and adaptive immunity. *Cell Mol Life Sci.* 2001 Jun;58(7):978–89.

86. Yang D, Biragyn A, Kwak LW, Oppenheim JJ. Mammalian defensins in immunity: More than just microbicidal. *Trends Immunol.* 2002;23(6):291–6.
87. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol.* 2010 Jul;8(7):481–90.
88. Yamamoto M, Aizawa R. Maintaining a protective state for human periodontal tissue. *Periodontol 2000.* 2021;86(1):142–56.
89. Otte J-M, Werner I, Brand S, Chromik AM, Schmitz F, Kleine M, et al. Human beta defensin 2 promotes intestinal wound healing in vitro. *J Cell Biochem.* 2008 Aug;104(6):2286–97.
90. Dommisch H. Differential gene expression of in inflammatory gingival diseases. 2005;20:186–90.
91. Kono N, Arai H. Intracellular Transport of Fat-Soluble Vitamins A and E. *Traffic.* 2015;16(1):19–34.
92. Lykstad J SS. Biochemistry, Water Soluble Vitamins. StatPearls Publishing; 2022. 1–5 p.
93. Hennekens CH, Mayrent SL, Willett W. Vitamin A, carotenoids, and retinoids. *Cancer* [Internet]. 1986;58(S8):1837–41. Available from: [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19861015\)58:8+%3C1837::AID-CNCR2820581409%3E3.0.CO](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19861015)58:8+%3C1837::AID-CNCR2820581409%3E3.0.CO)
94. Moise AR, Isken A, Domínguez M, de Lera AR, von Lintig J, Palczewski K.

Specificity of zebrafish retinol saturase: formation of all-trans-13,14-dihydroretinol and all-trans-7,8-dihydroretinol. *Biochemistry*. 2007 Feb;46(7):1811–20.

95. Dawson MI. The importance of vitamin A in nutrition. *Curr Pharm Des*. 2000 Feb;6(3):311–25.
96. Harrison EH. Mechanisms involved in the intestinal absorption of dietary vitamin A and provitamin A carotenoids. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* [Internet]. 2012;1821(1):70–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.06.002>
97. Kawaguchi R, Yu J, Honda J, Hu J, Whitelegge J, Ping P, et al. A membrane receptor for retinol binding protein mediates cellular uptake of vitamin A. *Science* (80-). 2007;315(5813):820–5.
98. Theodosiou M, Laudet V, Schubert M. From carrot to clinic: an overview of the retinoic acid signaling pathway. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2010;67(9):1423–45. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0268-z>
99. Dong D, Ruuska SE, Levinthal DJ, Noy N. Distinct roles for cellular retinoic acid-binding proteins I and II in regulating signaling by retinoic acid. *J Biol Chem* [Internet]. 1999;274(34):23695–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.274.34.23695>
100. Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* [Internet]. 1996;10(9):940–54. Available from: <https://doi.org/10.1096/fasebj.10.9.8801176>

101. Altucci L, Gronemeyer H. The promise of retinoids to fight against cancer. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2001;1(3):181–93. Available from: <https://doi.org/10.1038/35106036>
102. Heyman RA, Mangelsdorf DJ, Dyck JA, Stein RB, Eichele G, Evans RM, et al. 9-cis retinoic acid is a high affinity ligand for the retinoid X receptor. *Cell*. 1992 Jan;68(2):397–406.
103. Georgiadi A, Kersten S. Mechanisms of gene regulation by fatty acids. *Adv Nutr*. 2012 Mar;3(2):127–34.
104. Rochette-Egly C, Germain P. Dynamic and combinatorial control of gene expression by nuclear retinoic acid receptors (RARs). *Nucl Recept Signal*. 2009 May;7:e005.
105. Schüle R, Rangarajan P, Yang N, Kliewer S, Ransone LJ, Bolado J, et al. Retinoic acid is a negative regulator of AP-1-responsive genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Jul;88(14):6092–6.
106. Karamouzis M V, Papavassiliou AG. Retinoid receptor cross-talk in respiratory epithelium cancer chemoprevention. *Trends Mol Med*. 2005 Jan;11(1):10–6.
107. Szanto A, Narkar V, Shen Q, Uray IP, Davies PJA, Nagy L. Retinoid X receptors: X-ploring their (patho)physiological functions. *Cell Death Differ* [Internet]. 2004;11(2):S126–43. Available from: <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401533>
108. Shibuya N, Nemoto E, Kanaya S, Kunii R, Shimauchi H. Retinoic acid is a

potential negative regulator for differentiation of human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res.* 2005;40(6):432–40.

109. Layton A. The use of isotretinoin in acne. *Dermatoendocrinol.* 2009 May;1(3):162–9.
110. Almond-Roesler B, Blume-Peytavi U, Bisson S, Krahn M, Rohloff E, Orfanos CE. Monitoring of isotretinoin therapy by measuring the plasma levels of isotretinoin and 4-oxo-Isotretinoin. *Dermatology.* 1998;196(1):176–81.
111. Lee SH, Jun HK, Lee HR, Chung CP, Choi BK. Antibacterial and lipopolysaccharide (LPS)-neutralising activity of human cationic antimicrobial peptides against periodontopathogens. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;35(2):138–45.
112. Aksoy G, Adisen E, Erdem Ö, Aksakal AB. Comparison of Efficacy of Doxycycline and Isotretinoin on Cutaneous Human Beta-Defensin-1 and -2 Levels in Acne Vulgaris. *Indian J Dermatol.* 2018;63(5):380–5.
113. Doshi A, Zaheer A, Stiller MJ. A comparison of current acne grading systems and proposal of a novel system. *Int J Dermatol.* 1997 Jun;36(6):416–8.
114. Balci N, Kurgan Ş, Çekici A, Çakır T, Serdar MA. Free amino acid composition of saliva in patients with healthy periodontium and periodontitis. *Clin Oral Investig.* 2021 Jun;25(6):4175–83.
115. Gürlek Ö, Gümüş P, Nile CJ, Lappin DF, Buduneli N. Biomarkers and Bacteria Around Implants and Natural Teeth in the Same Individuals. *J Periodontol.*

2017 Aug;88(8):752–61.

116. Joly S, Maze C, McCray PBJ, Guthmiller JM. Human beta-defensins 2 and 3 demonstrate strain-selective activity against oral microorganisms. *J Clin Microbiol.* 2004 Mar;42(3):1024–9.
117. Ebersole JL, Graves CL, Gonzalez OA, Dawson D 3rd, Morford LA, Huja PE, et al. Aging, inflammation, immunity and periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2016 Oct;72(1):54–75.
118. Oikarinen K, Salo T, Kylmäniemi M, Palatsi R, Karhunen T, Oikarinen A. Systemic oral isotretinoin therapy and flow rate, pH, and matrix metalloproteinase-9 activity of stimulated saliva. *Acta Odontol Scand.* 1995;53(6):369–71.
119. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent.* 2001 Feb;85(2):162–9.
120. Gaetti-Jardim E, Jardim ECG, Schweitzer CM, da Silva JCL, Oliveira MM, Masocatto DC, et al. Supragingival and subgingival microbiota from patients with poor oral hygiene submitted to radiotherapy for head and neck cancer treatment. *Arch Oral Biol [Internet].* 2018;90(January):45–52. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.01.003>
121. Dommisch H, Açil Y, Dunsche A, Winter J, Jepsen S. Differential gene expression of human beta-defensins (hBD-1, -2, -3) in inflammatory gingival diseases. *Oral Microbiol Immunol.* 2005 Jun;20(3):186–90.

122. Yilmaz D, Güncü GN, Könönen E, Barış E, Çağlayan F, Gursoy UK. Overexpressions of hBD-2, hBD-3, and hCAP18/LL-37 in Gingiva of Diabetics with Periodontitis. *Immunobiology*. 2015;220(11):1219–26.
123. Schön M, Rheinwald JG. A limited role for retinoic acid and retinoic acid receptors $RAR\alpha$ and $RAR\beta$ in regulating keratin 19 expression and keratinization in oral and epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 1996;107(3):428–38.
124. DeSantis KA, Stabell AR, Spitzer DC, O’Keefe KJ, Nelson DA, Larsen M. $RAR\alpha$ and $RAR\gamma$ reciprocally control K5+ progenitor cell expansion in developing salivary glands. *Organogenesis*. 2017;13(4):125–40.
125. Proteins VD, Blakeley M, Sobczyk A. The Origins of Salivary Vitamin A, Vitamin B 12 and Vitamin D-Binding Proteins 2,3. 2020;1–12.
126. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis: A review. *J Clin Periodontol*. 2000;27(7):453–65.
127. Gomes PDS, Fernandes MH. Defensins in the oral cavity: Distribution and biological role. *J Oral Pathol Med*. 2010;39(1):1–9.
128. Mahanonda R, Sa-Ard-Iam N, Eksomtramate M, Rerkyen P, Phairat B, Schaecher KE, et al. Cigarette smoke extract modulates human β -defensin-2 and interleukin-8 expression in human gingival epithelial cells. *J Periodontal Res*. 2009;44(4):557–64.
129. Tang E, Khan I, Andreana S, Arany PR. Laser-activated transforming growth

factor- β 1 induces human β -defensin 2: implications for laser therapies for periodontitis and peri-implantitis. *J Periodontal Res.* 2017;52(3):360–7.

130. Kao C, Chen Y, Thai P, Wachi S, Huang F, Kim C, et al. IL-17 Markedly Up-Regulates β -Defensin-2 Expression in Human Airway Epithelium via JAK and NF- κ B Signaling Pathways. 2022;

131. González-Hernández JM, Franco L, Colomer-Poveda D, Martinez-Subiela S, Cugat R, Cerón JJ, et al. Influence of sampling conditions, salivary flow, and total protein content in uric acid measurements in Saliva. *Antioxidants.* 2019;8(9):2–9.

10.EKLER

10.1. Gönüllü Onam Formları

Çalışmanın Adı: *Retinoik Asitlerin Dişetine Etkisinin Beta Defensinler Açısından Değerlendirilmesi ve olası mikrobiyal / inflamatuvar moleküllerin incelenmesi*

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Ağız boşluğu, sert dokuların dışarıya açıldığı, hem yararlı hem de patojenik bakterileri içeren karmaşık bir ortamdır. Bu ortamda diş eti epiteli, hücreler arasındaki sıkı bağlantıları ile sert fiziksel bir bariyer olmasının yanı sıra içindeki hücrelerden sentezlenen antimikrobiyal peptitlerin salgılanması ile kimyasal bir koruyucu bariyer görevi görmektedir. Diş kaybıyla seyreden dişeti hastalığının sebepleri henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Dişeti hastalıklarının etkeni çok faktörlü ve oldukça karmaşıktır. Bunun sebebi, asıl nedenin mikrop tabakası içerisinde yer alan zengin bir mikroorganizma topluluğu olması yanında, konak cevabını yönlendiren birçok genetik, çevresel ve sistemik faktörün dişeti hastalığının başlamasında, ilerlemesinde ve şiddetinde rol oynamasıdır. Vitaminler beslenmenin temel bileşenleridir ve sağlıklı bir yaşamın süreçlerin sürdürülmesi için gereklidir. A vitamini, aktif metaboliti olan retinoik asit (RA) aracılığıyla, embriyonik gelişim, hormon işlevi, bağışıklık cevabının düzenlenmesi, deri ve mukozanın homeostazi gibi çeşitli biyolojik etkilere sahiptir. Araştırmalar, A vitamini eksikliği ile kronik dişeti hastalığı mevcudiyeti arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Dişeti hastalıklarının tedavisinde ağız bakımı eğitimi ile diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi işlemlerini içeren cerrahisiz dişeti hastalığı tedavisi çoğu hastada uzun dönemde klinik olarak başarılı olmaktadır. Ancak dişetinin önemli bir savunma mekanizmasını oluşturan dişeti epitelinin dişeti sağlığının korunması, hastalıktan sağlığa geçiş ve yara iyileşmesindeki bariyerinin güçlendirilmesinde etkili olabilecek faktörlerin önemini açığa kavuşturmak, hastalıkların tedavisi ve ilerleyiş süreci açısından büyük bir önem taşımaktadır. Çalışmamızda dişetinin all-trans retinoik asitlere(ATRA) karşı gösterdiği tepki ve bu tepkinin dişeti iltihabında ve dokunun savunmasındaki farklı profilaktik ve terapötik yaklaşımların araştırılması hedeflenmektedir.

Önce tükürük ve kan örnekleri alınacaktır. Sonra diş ve dişeti arasındaki aralıktan (dişeti oluğundan) salgılanan diş çevresindeki dişeti hastalığını değerlendirilmesinde kullanılan dişeti oluğu sıvısı örnekleri alınacaktır. Bu örneklemede steril kağıt şeritler aralığa yerleştirilerek 30 saniye boyunca salgılanan sıvıyı emmesi beklenmektedir. En son olarak dişin çevresinde ve dişeti oluğunda bulunan bakteriyel plak örnekleri kağıt şeritler kullanılarak toplanacaktır. Örneklemelerin ardından klinik ölçümler yapılacaktır. Dişeti tedaviniz sırasında yada 20 yaş diş çekiminiz sırasında diş eti muayenesiz yapılacak, lokal anestezi altında dişeti iltihap dokusu olarak tanımlanan ve halihazırda tedavi amaçlı uzaklaştırılacak olan granülasyon dokusu veya 20 yaş çekimi sırasında doku bütünlüğünü tamamalayacak şekilde uygulanan kesiler bölgedeki diş eti fazlalığı uzaklaştırılacak ve ilgili dokular bilimsel çalışmamız için saklanacaktır.

Araştırmanın toplam süresi 1 yıldır. Fakat sizin araştırmaya dahil olma süreniz periodontal tedavi öncesi örneklerin alınmasıyla sona ermektedir. Araştırmamıza,

sistemik sağlıklı olarak en az 6 aydır dermatolojik amaçlar ile retinoik asit preperatları kullanan bireyler ile sistemik olarak sağlıklı gönüllüler olmak üzere toplam 80 katılımcı dahil edilecektir. Sizinle ilgili bulgu ve veriler kullanılmakla birlikte kimlikleriniz gizli tutulacaktır.

Gerekli tedaviler çalışmaya dahil olmamanız durumunda da aynen uygulanacaktır. Her hastaya özgü alınan serum, tükürük, plak, dişeti ve dişeti oluğu sıvısı tedaviye olumlu veya olumsuz hiçbir etkisi olmamakla birlikte dişetinin koruyucu peptidlerinin dişeti hastalığı açısından değerlendirilmesi bilimsel açıdan büyük önem taşımaktadır.

Çalışmaya katılmayı reddetme ve/veya herhangi bir zamanda vazgeçme hakkına sahipsiniz. Vazgeçme veya reddetme durumunda da tedavi ve bakımlarınız normal olarak gerçekleştirilecektir. Araştırmada yer almanız durumunda yapılacak tetkik ve tahliller size veya bağlı olduğunuz kuruluşa herhangi bir mali yük getirmeyecektir.

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir. Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

Çalışma süresi içinde herhangi bir yakınmanızı bildirmek veya çalışmadan çıkmak istediğinizde Dr.Nur Atalay ve Dr. Nur Balcı ile irtibat kurabilirsiniz.

Tel: Dr. Atalay ve Balcı: XXXXXXXXXX

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 1 sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAşTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAşTIRMACININ		İMZAğI
ADI & SOYADI		
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZAğI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

11. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : E-10840098-772.02-66558
Konu : Etik Kurulu Kararı

30/12/2020

Sayın Saadet Nur ATALAY

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “Retinoik Asitlerin Dişetine Etkisinin Beta Defensinler Açısından Değerlendirilmesi ve Olası Mikrobiyal / İnflamatuvar Moleküllerin İncelenmesi” isimli başvurunuz incelenmiş olup etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Dr. Öğr. Üyesi Mahmut TOKAÇ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Ek:
-Karar Formu (2 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Dr. Öğr. Uye. Mahmut TOKAÇ tarafından 30.12.2020 tarihinde e-imzalanmıştır.
Evrağımızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden 5AEBBAF6XC kodu ile doğrulayabilirsiniz.

Medipol Üniversitesi Kavacık Yerleşkesi (Ana Yerleşke Rektörlük)
Kavacık Mah. İkinciler Cad. No: 19, Kavacık Kavağı, 34810 Beykoz, İstanbul
T: 444 83 44 F: 0212 531 75 55
E-Posta: bulge@medipol.edu.tr İnternet Adresi: www.medipol.edu.tr
Kep Adresi: medipoluniv-writres@hs03.kap.tr

Ayrıntılı Bilgi İçin: Bülge KAYA



BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Retinoid Asitlerin Dişetine Etkisinin Beta Defensinler Açısından Değerlendirilmesi ve Olası <u>Mikrobiyal</u> / <u>İnflamatuvar</u> Moleküllerin İncelenmesi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Saadet Nur ATALAY			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	<u>Periodontoloji</u> / Doktora Öğrencisi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ PLANI			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BEĞLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
Karar Bilgileri	Karar No:995	Tarih: 24/12/2020				
	Yukarıda bilgileri verilen Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın etik ve bilimsel yönden uygun olduğuna "oybirliği" ile karar verilmiştir.					

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Mahmut TOKAÇ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlgili		Katılım *		İmza
Dr. Öğr. Üyesi Mahmut TOKAÇ	Tıp Tarihi ve Etik	İstanbul Medipol Üniversitesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Uygundur
Prof. Dr. Mete ÜNGÖR	Endodonti	İstanbul Medipol Üniversitesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Uygundur
Doç. Dr. Mehmet Kemal ÖZDEMİR	Elektrik ve Elektronik	İstanbul Medipol Üniversitesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Uygundur
Doç. Dr. İlknur KESKİN	Histoloji ve Embriyoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Uygundur
Doç. Dr. Devrim TARAKCI	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon	İstanbul Medipol Üniversitesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Uygundur
Dr. Öğr. Üyesi Nemiha HACIHASANOĞLU ÇAKMAK	Biyokimya	İstanbul Medipol Üniversitesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Uygundur
Dr. Öğr. Üyesi Neriman İpek KIRMIZI	Tabii Farmakoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Uygundur

* :Toplantıda Bulunma

COVID-19 (Pandemi) nedeniyle etik kurulumuz sanal olarak toplanmış olup kurul üyelerimizden uygunluk kararı sanal ortamda alınmıştır. Araştırmacı tarafından talep edilirse, COVID-19 (Pandemi) sonrası ıslak imzalı karar formu ayrıca hazırlanabilir.

Girişimsel Olmayan Etik Kurulu Sekreteri
Bilge KAYA

T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı: E-10840098-772.02-90
Konu: Etik Kurulu Kararı

04/01/2023

Sayın SAADET NUR ATALAY

Üniversitemizin Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 30.12.2020 tarihli E-10840098-772.02-66558 sayı no ile onay verilen "Retinoik Asitlerin Dişetine Etkisinin Beta Defensinler Açısından Değerlendirilmesi ve Olası Mikrobiyal / İnflamatuvar Moleküllerin İncelenmesi" isimli çalışmanız için aşağıda verilen değişiklikler uygun bulunmuş olup kayıt altına alınmıştır.

Bilgilerinize rica ederim.

- Yukarıda detayları verilen araştırmanızın açık adı yerine "**Sistemik Retinoik Asit Kullanımının Dişeti Antimikrobiyal Savunma Mekanizmaları Üzerine Etkisi**" olarak değiştirilmesi isteği

Dr. Öğr. Üyesi Mahmut TOKAÇ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Evrakınızı <https://turkiye.gov.tr/istanbul-medipol-universitesi-ebys-linkinden-0503A854X67-kodu-ile-dogrulayabilirsiniz>.

Medipol Üniversitesi Kavacık Yerleşkesi (Ana Yerleşke Rektörlük)
Kavacık Mah. Ekinçiler Cad. No: 19, Kavacık Kavşağı, 34810 Beykoz, İstanbul
T: 444 85 44 F: 0212 531 75 55

Ayrıntılı Bilgi İçin: Bilge KAYA
Tel: 

E-Posta: bilgi@medipol.edu.tr İnternet Adresi: www.medipol.edu.tr
Kep Adresi: medipoluniversitesi@hs03.kep.tr

