

# Periodontal Hastalıklarda Tükürük Total Antioksidan Kapasitesinin Ölçülmesi

## Detection of Total Antioxidant Capacity of Saliva in Periodontal Diseases

Gökçen Ateş<sup>1</sup>, Habibe Öztürk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çanakkale Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi

Gökçen Ateş OrclD:

Habibe Öztürk OrclD:

**Atıf/Citation:** Ak, A.T., Aksoy, H. & Özdaş, D.Ö. (2018). Türk ailelerinin florlu diş macunu ve topikal flor uygulamaları hakkında bilgi ve görüşlerinin değerlendirilmesi: Pilot çalışma. *Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 39(3), 165-174.

### ÖZ

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Periodontal hastalıklar, artmış oksidatif stres ve azalmış antioksidan seviyeleri ile ilişkilendirilmektedir. Fakat azalmış antioksidan seviyelerinin, periodontal hastalığın sebebi ve/veya sonucu olup olmadığı bilinmemektedir. Çalışmamızın amacı, kronik periodontal hastalığı olan bireylerde, periodontal başlangıç tedavisinin, tükürük ve plazma total antioksidan seviyelerini nasıl etkilediğini karşılaştırmalı olarak incelemektir.

**YÖNTEM ve GEREÇLER:** Çalışmamızda 27 kontrol ve 24 kronik periodontitis sahip birey dahil edilmiştir. Tüm bireylerden başlangıçta ve periodontitisli bireylerden tedavi sonrası 2 ve 6. aylarda tükürük ve kan örnekleri alınmıştır. Total antioksidan seviyesi troloksa eşdeğer antioksidan kapasitenin ölçümü ile belirlenmiştir.

**BULGULAR:** Sigara içmeyen periodontal hastalıklı grubun tükürük ve plazma total antioksidan seviyeleri kontrol grubundan düşük bulunmuş olsa da, istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Sigara içen kontrol grubu ise diğer tüm gruplardan bütün ölçüm dönemlerinde, hem tükürük hem plazma total antioksidan değerleri açısından, istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Tedavi sonunda sigara içmeyen ve periodontal hastalıklı olan grubun, antioksidan seviyeleri artarak kontrol grubuna yaklaşmıştır. Sigara içen ve periodontal hastalığı olan grupta da tedavi sonrasında benzer şekilde antioksidan değerleri artmış olmasına rağmen sigara içen kontrol grubuyla arasındaki istatistiksel fark korunmuştur.

**TARTIŞMA ve SONUÇ:** Periodontal hastalıklarda düşük bulunan antioksidan seviyelerinin, periodontal tedavi ile sağlıklı bireylerin seviyesine ulaşabildiği ve periodontal hastalıklardaki düşük antioksidan değerlerinin periodontal hastalığın bir sonucu olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** total antioksidan kapasite, tükürük, plazma, reaktif oksijen türevleri, periodontal hastalık

### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** *it is not clear that the decreased levels of antioxidants are the effect or the cause of the periodontal disease. Our aim is to find out how periodontal treatment affects the saliva and plasma antioxidant levels of periodontally affected patients, in relation to the antioxidant levels of the controls.*

**METHODS:** *In our study 24 periodontitis and 27 healthy controls, which were also grouped by their smoking status, were included. Saliva and blood samples were collected before, 2 and 6 months after the periodontal treatment. The total antioxidant levels were measured by the trolox equivalent antioxidant assay.*

**RESULTS:** *Eventhough the saliva and plasma antioxidant concentrations were lower in the non-smoking periodontitis subjects, it was not statistically significant. Both saliva and plasma antioxidant levels of the smoker controls were statistically higher than other groups at all times. After the treatment, the antioxidant levels of the non-smoker periodontitis subjects has raised to reach the levels of the non-smoker controls. The antioxidant levels of the smoker controls remained statistically higher than the smoker periodontitis subjects.*

**DISCUSSION AND CONCLUSION:** *We conclude that, the low antioxidant levels found in periodontitis subjects are the result of periodontal disease and could be restored to the control subject levels with proper periodontal treatment.*

**Keywords:** *total antioxidant capacity, saliva, plasma, reactive oxygen species, periodontal disease*

## 1. GİRİŞ

Periodontal hastalığın teşhisinde periodontal cep derinliği, klinik ataşman seviyesi, plak indeksi, sondalamada kanama gibi geleneksel klinik tanı yöntemleri ve kemik kaybı değerlendirmesi için radyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler hastalığın şiddeti ile ilgili bilgi verirken, hastalık aktivitesi hakkında kesin bir fikir vermemektedir (1). Periodontal hastalıkların en önemli etiyolojik faktörü mikrobiyal dental plaktır. Sistemik, çevresel ve genetik faktörler periodontal hastalığın şiddetini belirler. Pek çok farklı etkene bağlı olduğu gösterilmiş olan periodontal hastalıklarda, periodontal yıkımın başlama mekanizmaları henüz tam olarak açıklanamamıştır. Doku yıkımı bakteriler ve yan ürünlerine karşı oluşan aşırı konak yanıtının sonucu ortaya çıkar (2). Proteolitik enzim ve inhibitörleri ile reaktif oksijen türleri (ROT) ve antioksidan (AO) sistem arasındaki homeostatik dengenin bozulması olası yıkım mekanizmalarından biri olarak düşünülmektedir (3,4).

ROT'deki görülen artış, normal şartlarda AO mekanizmalarca dengede tutulmaya çalışılmaktadır. AO'lar bu işlevi ya ROT'ne bağlı hasarın oluşumunu önleyerek, ya ROT'ni daha az zararlı hale getirerek veya meydana gelmiş hasarı onararak yerine getirirler. ROT'nin AO'lar tarafından dengelenemediği ROT/AO dengesinin ROT yönünde bozulduğunda konak dokuda yıkımın başladığı varsayılmaktadır (4). Bu nedenle son yıllarda tükürüğün antioksidan savunma sistemleri önem kazanmaya başlamıştır (5). Sculley, periodontal hastalığın artmış oksidatif hasar ve azalmış tükürük AO seviyesi ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. (6). Chapple ve ark. serum AO seviyelerinin yüksek olmasının periodontal hastalık için koruyucu bir faktör olduğu sonucuna varmışlardır. (7).

Oluşan hasarın belirlenmesinde reaktif özellikleri ve yarı ömrü çok kısa olan ROT'nin tespit edilmesinin oldukça zor olması nedeniyle oksidatif hasarı belirlemede genellikle ikincil kanıt olarak AO değerinin ölçülmesi gerektiği bildirilmiştir (8).

Antioksidanlar tüm vücut sıvılarında bulunur ve hem sistemik hem de lokal olarak ölçülebilirler. Periodontal açıdan AO değerlerini incelemek için serum, plazma, tükürük ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) kullanılmaktadır (4,9). Araştırmacılara göre periodontal hastalığı olan bireylerin düşmüş AO seviyesi ölçülerek hastalık aktivitesi değerlendirilebilir (7,10). Fakat total AO seviyesindeki azalmanın periodontal hastalığın sebebi veya sonucu olup olmadığı konusu henüz belirsizliğini korumaktadır.

İltihabi ve klinik parametrelerin periodontal hastalığın şiddeti ile doğru orantılı olarak artmasından

dolayı daha anlamlı sonuçlar elde etmek adına ileri kronik periodontal hastalığı olan bireylerin yer aldığı bu çalışmada periodontal tedavinin tükürük ve plazmada total antioksidan kapasitesi (TAOK) üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmanın hipotezi, kronik periodontitisli hastalarda periodontal başlangıç tedavisinin tükürük ve plazma TAOK seviyelerini etkilemediği yönündedir. Bu amaçla kronik periodontal hastalığı olan bireylerin başlangıç tedavisi öncesi ve sonrası TAOK değerleri sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırılmaktadır. Böylelikle düşük olan AO değerlerinin periodontal hastalığa sebebiyet veren yapısal bir durum mu veya hastalıkta artan ROT saldırısının sonucu meydana gelen fonksiyonel bir durum mu olup olmadığının belirlenmesi hedeflenmektedir. Ayrıca en önemli eksojen ROT kaynağı olan sigara kullanımının biyokimyasal parametrelere etkisinin incelenmesi de amaçlarımız arasında yer almaktadır.

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1 Hasta Seçimi

Çalışma grubu, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalar arasından seçilmiştir. Bireyler çalışmanın hedefi ve uygulanacak yöntemler konusunda bilgilendirilip onayları alınmıştır. Araştırma projesi (protokol numarası: 2007/211), İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Klinik ve radyolojik muayene sonucu 19'dan daha fazla dişi olan, tüm bölgelerin en az %30'unda 5mm ve üzeri klinik ataşman ve alveol kemik kaybı olan kronik periodontitis teşhisi konulmuş hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. 30-50 yaş arasındaki hastalarda cinsiyet ayrımı yapılmamıştır. Kontrol grubu ise klinik ataşman kaybı olmayan, periodontal olarak sağlıklı ve aynı yaş grubundaki bireylerden oluşturulmuştur. Ayrıca çalışma grubundaki sigara içen bireyler günde en az 10 adet sigara içerken, sigara içmeyen gruptakilerin ise en az 2 yıl önce sigarayı bırakılmış olmasına dikkat edilmiştir. Araştırma kapsamına alınan bireylerin; son 6 ay içinde diştaşı temizliği yaptırmamış; antibiyotik, vitamin veya ağız gargarası kullanmamış olmalarına, kadın hastaların gebe veya laktasyon döneminde olmamalarına dikkat edilmiştir.

Çalışmaya 51 birey dahil edilmiştir. Çalışma grubu 17 tanesi kronik periodontitis olan ve sigara içen (KP-S), 7 tanesi kronik periodontitis olan ve sigara içmeyen bireyden (KP) oluşmaktadır. Kontrol grubu ise periodontal olarak sağlıklı 17 sigara içmeyen (S) ve 10 tane de sigara içen (S-S) bireyden oluşmaktadır.

### 2.2. Klinik Değerlendirmeler

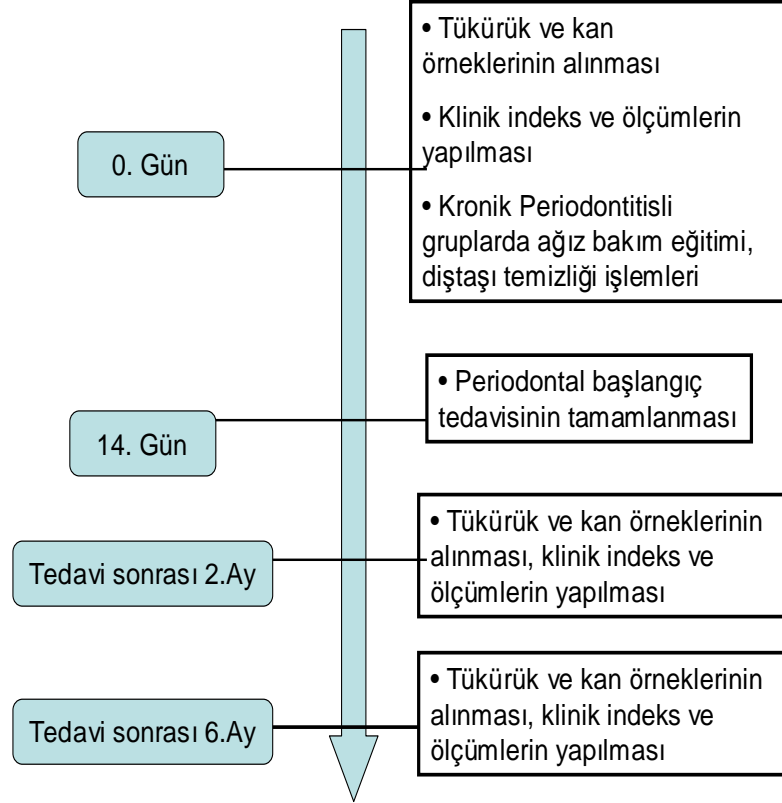
Çalışmadaki bireylerin klinik muayenesinde plak varlığı (Pİ), gingival indeks (Gİ), sondalamada kanama

(Kİ), sondalanabilir cep derinliği (SCD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) değerlendirilmiştir. Tüm ölçümler kontrol grubunda sadece bir defa yapılırken, kronik periodontitis grubunda ise başlangıçta, tedavi sonrası 2 ve 6. ayda gerçekleştirilmiştir. Klinik ölçümler aynı araştırmacı tarafından her bir dişin 6 noktasından Williams tipi periodontal sonda (Hu-Friedy PW, Chicago-Illinois, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Daha sonra yine aynı araştırmacı tarafından kronik periodontitis grubuna başlangıç tedavisi olarak diş yüzeyi

temizliği, ağız bakımı eğitimi ve kök yüzeyi düzleştirme işlemleri uygulanmıştır.

### 2.3. Biyokimyasal Değerlendirmeler

Total antioksidan değerlerinin ölçülebilmesi için çalışma grubunda tedavi öncesi ve sonrası 2 ve 6. aylarda, kontrol grubundan ise bir defa tükürük ve kan örnekleri alınmış olup örnekler -80°C'de saklanmıştır. Araştırma planı şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1: Araştırma planı

#### 2.3.1 Tükürük Örneklerinin Elde Edilmesi

Hastalardan ağız bakımlarını bir gece önceden gerçekleştirerek, en az sekiz saat açlık olacak şekilde, sabah erken saatte kliniğe gelerek oturur pozisyonda 5 dakika boyunca yutkunmadan biriken tükürüğü verilen kaba aktarmaları istendi.

#### 2.3.2 Plazma Örneklerinin Elde Edilmesi

Hastalardan aç karnına alınan venöz kandan 1000xg, 4°C'de 10 dakika santrifüjle plazma elde edildi.

#### 2.3.3 Tükürük ve Plazma Total Antioksidan Kapasitenin Ölçümü

Tükürük ve plazmadaki total antioksidan kapasite ölçümü için Cayman Antioxidant Assay Kit (709001 Cayman Chemical Company, Michigan USA) kullanıldı.

Ortaya çıkan rengin optik yoğunluğu ELISA okuyucusunda 405 nm absorbansta değerlendirildi (Resim 2). Antioksidan konsantrasyonu Troloks standart eğrisi dikkate alınarak hesaplandı.

### 3. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Çalışmamızda gerekli minimum denek sayısını belirlemek için yapılan güç analizi için SPSS 20.0 (SPSS, IBM, New York, NY, ABD) yazılım programı kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık eşik düzeyi olarak  $\alpha=0.05$  alındı. Çalışma verileri değerlendirilirken, süreklilik gösteren değişkenler ortalama, standart sapma; sayılabilir ve kesikli değişkenler ise, frekans ve yüzde olarak verildi. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Parametrik varsayımların sağlanıp sağlanmadığını test etmek için, Kolmogorov- Smirnov

testi uygulandı. Ölçüm tipi niceliksel verilerin, üç veya daha fazla bağımsız grubun, parametrik test varsayımlarının sağlanmaması halinde, Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanılırken; niceliksel verilerin, iki bağımsız grubun parametrik test varsayımlarının sağlanmaması halinde ise, grupların karşılaştırmasında, Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. Ölçüm tipi niceliksel verilerin, üç veya daha fazla bağımsız grubun parametrik test varsayımlarının sağlanması halinde ANOVA testi ve niceliksel verilerin, iki bağımsız grubun parametrik test varsayımlarının sağlanması halinde ise, grupların karşılaştırmasında, Student t Testi kullanılmıştır. Her bir grubun önce ve sonra karşılaştırmaları, Wilcoxon Sign Test, iki ölçüm verisinin parametrik test varsayımlarının sağlanması halinde ise,

Paired Sample t Test uygulanmıştır. ANOVA testi sonucunda anlamlı farklılık bulunması halinde, grupların ikili karşılaştırmalarında Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır. Tüm bunların yanında, değişkenler arasındaki ilişkiyi incelemek için de, Pearson Korelasyon Analizi kullanılmıştır.

#### 4. BULGULAR

##### 4.1 Klinik Bulgular

Klinik periodontal parametrelerin gruplar arası karşılaştırmaları incelendiğinde periodontitisli gruplarda sigara kullanımından bağımsız olarak başlangıç, 2. ay ve 6. ay Pİ, Gİ, Kİ, SCD ve KAS ölçümlerinin anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 1).

**Tablo 1:** Kontrol ve kronik periodontitis gruplarının sigaradan bağımsız karşılaştırılması (Ortalama  $\pm$  ss)

	Çalışma Grubu (n=24)			Kontrol Grubu(n=27)			S	S-S
	KP			KP-S				
	Başl.	2. ay	6.ay	Başl.	2.ay	6.ay		
Pİ (%)	0,79 $\pm$ 0,151a	0,31 $\pm$ 0,15c	0,39 $\pm$ 0,675d	0,75 $\pm$ 0,147a	0,31 $\pm$ 0,091c	0,27 $\pm$ 0,127d	0,27 $\pm$ 0,039b	0,25 $\pm$ 0,028b
Gİ	1,59 $\pm$ 0,249a	0,78 $\pm$ 0,262c	0,65 $\pm$ 0,292d	0,84 $\pm$ 0,479a	0,4 $\pm$ 0,292c	0,31 $\pm$ 0,315d	0,131 $\pm$ 0,080b	0,07 $\pm$ 0,031b
Kİ (%)	0,8 $\pm$ 0,174a	0,48 $\pm$ 0,125c	0,45 $\pm$ 0,159d	0,64 $\pm$ 0,210a	0,38 $\pm$ 0,167c	0,34 $\pm$ 0,141d	0,13 $\pm$ 0,085b	0,08 $\pm$ 0,053b
SCD (mm)	3,31 $\pm$ 0,494a	2,52 $\pm$ 0,326c	2,43 $\pm$ 0,313d	3,92 $\pm$ 0,371a	3,18 $\pm$ 0,376c	2,95 $\pm$ 0,252d	1,5 $\pm$ 0,051b	1,53 $\pm$ 0,05b
KAS (mm)	4,06 $\pm$ 0,984a	3,5 $\pm$ 0,954c	3,42 $\pm$ 0,909d	4,85 $\pm$ 0,906a	4,32 $\pm$ 0,964c	4,05 $\pm$ 0,843d	1,5 $\pm$ 0,051b	1,53 $\pm$ 0,052b

a,b: Başlangıç ile kontrol gruplarının karşılaştırılması ( $p < 0.05$ )

a,c: Başlangıç ve tedaviden sonra 2.ay sonuçlarının karşılaştırılması ( $p < 0.05$ )

a,d: Başlangıç ve tedaviden sonra 6.ay sonuçlarının karşılaştırılması ( $p < 0.05$ )

#### 4.2 Tükürük Total Antioksidan Kapasitesi Bulguları

##### 4.2.a Gruplar Arası Başlangıç T-TAOK Bulguları

Gruplar arası başlangıç T-TAOK değerleri

Tablo2'de gösterilmektedir. Bu değerlere bakıldığında S-S grubunun 0. ay T-TAOK ortalaması S, KP ve KP-S grubundan istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ( $p \leq 0.05$ ).

**Tablo 2.** Gruplara göre T-TAOK karşılaştırması

	KP		KP-S		S		S-S		Test Değeri	p
	Ortalama	Standard Sapma	Ortalama	Standard Sapma	Ortalama	Standard Sapma	Ortalama	Standard Sapma		
0.ay T-TAOK	0,56	0,370	0,53	0,302	0,67	0,203	1,13	0,331	F=8,765	0.0001 <sup>a</sup>
2.ay T-TAOK	0,59	0,257	0,54	0,271					t=0,405	0,689 <sup>b</sup>
6.ay T-TAOK	0,64	0,224	0,63	0,198					t=0,057	0,955 <sup>b</sup>

a. ANOVA

b. Student t Testi

#### 4.2.b Grup İçi 0, 2 ve 6. Ay T-TAOK Karşılaştırması

##### KP ve KP-S Grubu T-TAOK Karşılaştırması

KP ve KP-S gruplarında 0, 2 ve 6. aylar T-TAOK ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

##### KP ve KP-S Gruplarının Tedavi Sonrası 2 ve 6. Ay T-TAOK Karşılaştırması

2 ve 6. ay T-TAOK ortalamalarına göre hem KP grubu hem de KP-S grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

##### Kontrol ve Çalışma Grupları 2 ve 6. Ay T-TAOK Karşılaştırması

S grubu ile KP ve KP-S grubunun ortalamaları

arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). Bunun aksine S-S grubunun T-TAOK ortalaması KP ve KP-S gruplarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p\leq 0.05$ ).

#### 4.3 Plazma Total Antioksidan Kapasite Düzeyi Karşılaştırması

##### 4.3.a Gruplar Arası Başlangıç P-TAOK Karşılaştırması

Gruplar arası başlangıç P-TAOK değerleri Tablo3'de gösterilmektedir. Sonuçlara bakıldığında S-S grubunun P-TAOK ortalaması S, KP ve KP-S grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p\leq 0.05$ ).

**Tablo 3.** Gruplara göre P-TAOK karşılaştırması

	KP		KP-S		S		S-S		Test Değeri	p
	Ortalama	Standard Sapma	Ortalama	Standard Sapma	Ortalama	Standard Sapma	Ortalama	Standard Sapma		
0.ay P-TAOK	4,79	1,920	4,67	1,560	6,22	2,554	9,98	3,321	F=10,912	0.0001 <sup>a</sup>
2.ay P-TAOK	6,08	2,323	5,56	2,081					t=0,511	0,614 <sup>b</sup>
6.ay P-TAOK	6,53	1,898	5,15	1,809					t=1,646	0,114 <sup>b</sup>

a. ANOVA

b. Student t Testi

#### 4.3.b Grup İçi 0, 2 ve 6. Ay P-TAOK Karşılaştırması

##### KP Grubu P-TAOK Karşılaştırması

KP grubunun 2 ve 6. ay P-TAOK ortalamaları 0.aya göre anlamlı düzeyde yüksek ( $p\leq 0.05$ ) bulunurken, 2 ile 6. ay ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

##### KP-S Grubu P-TAOK Karşılaştırması

KP-S grubunun P-TAOK ortalamalarına bakıldığında 0,2 ve 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

##### KP ve KP-S Gruplarının Tedavi Sonrası 2 ve 6. Ay P-TAOK Karşılaştırması

KP grubunun hem 2. ay hem de 6. ay P-TAOK ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

##### Kontrol ve Çalışma Gruplarının 2. ve 6. Ay P-TAOK Karşılaştırması

##### S Grubu ile KP Grubunun 2. ve 6. Ay P-TAOK Karşılaştırması

S grubunun KP ve KP-S grupları ile 2 ve 6. aylardaki P-TAOK ortalamaları arasında anlamlı bir fark

bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

#### **S-S Grubu ile KP Grubunun 2 ve 6. Ay P-TAOK Karşılaştırması**

S-S grubunun hem 2 hem de 6. ay P-TAOK ortalaması KP ve KP-S gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p\leq 0.05$ ).

#### **4.4 Tükürük Akış Hızı Karşılaştırması**

##### **4.4.a Gruplar Arası Başlangıç TAH Karşılaştırması**

Grupların 0. ay TAH ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

##### **4.4.b Grup İçi 0, 2 ve 6. Ay TAH Karşılaştırması**

###### **KP Grubu TAH Karşılaştırması**

KP grubu TAH ortalaması 2. ayda 0. aydan yüksek bulunurken ( $p\leq 0.05$ ), 6. ay ile 0 ve 2. aylar arasında fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

###### **KP-S Grubu TAH Karşılaştırması**

KP-S grubunda 0, 2 ve 6. ay TAH ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

##### **KP ve KP-S Gruplarının Tedavi Sonrası 2. ve 6. Ay TAH Karşılaştırması**

KP grubunun hem 2. ay hem de 6. ay TAH

ortalamasının KP-S grubu ile arasında fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

#### **Kontrol ve Çalışma Grupları 2 ve 6. Ay TAH Karşılaştırması**

##### **S Grubu ile KP Grubunun 2. ve 6. Ay TAH Karşılaştırması**

S grubunun TAH ortalaması KP ve KP-S grupları için hem 2 hem de 6. ayda anlamlı düzeyde düşüktür ( $p\leq 0.05$ ).

##### **S-S Grubu ile KP Grubunun 2. ve 6. Ay TAH Karşılaştırması**

S-S grubu ile KP grubunun 2. ve 6. ay ve KP-S grubunun 6. ay TAH ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). Fakat KP-S grubunun 2. ay ortalamasından düşüktür ( $p\leq 0.05$ ).

#### **4.5 Total Antioksidan Akış Hızı Karşılaştırması**

##### **4.5.a Gruplar Arası Başlangıç TOAK-AH Karşılaştırması**

Gruplar arası başlangıç TAOK-AH değerleri Tablo 4'de gösterilmektedir. Buna göre KP ve KP-S grubu 0. ay TAOK-AH ortalaması S-S grubundan düşük bulunmuştur ( $p\leq 0.05$ ).

**Tablo 4.** Gruplara göre TAOK-AH incelemesi

	KP		KP-S		S		S-S		Test Değeri	p
	Ortalama	Standard Sapma	Ortalama	Standard Sapma	Ortalama	Standard Sapma	Ortalama	Standard Sapma		
0.ay TAH	0,45	0,364	0,56	0,310	0,36	,247	0,40	0,318	$\chi^2=2,765$	0,429 <sup>a</sup>
2.ay TAH	0,56	0,351	0,64	0,297					Z=-0,732	0,464 <sup>b</sup>
6.ay TAH	0,55	0,293	0,73	0,349					Z=-1,017	0,309 <sup>b</sup>

a. Kruskal-Wallis Test

b. Mann-Whitney U Test

##### **4.5.b Grup İçi 0, 2 ve 6. Ay TAOK-AH Karşılaştırması**

###### **KP ve KP-S Grubu TAOK-AH Karşılaştırması**

KP grubunda 0, 2 ve 6. ay TAOK-AH ortalamaları arasında istatistiksel fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

##### **KP ve KP-S Gruplarının Tedavi Sonrası 2. ve 6. Ay TAOK-AH Karşılaştırması**

KP ve KP-S gruplarının 2 ve 6. ay TAOK-AH ortalamaları arasında farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

##### **Kontrol ve Çalışma Grubu 2 ve 6. Ay TAOK-AH Karşılaştırması**

##### **S Grubu ile KP Grubunun 2 ve 6. Ay TAOK-AH Karşılaştırması**

S grubunun ortalaması, hem KP hem de KP-S grubunun 2 ve 6. aylarında yüksek bulunmuştur ( $p\leq 0.05$ ).

##### **S-S grubu ile KP grubunun 2. ve 6. Ay TAOK-AH Karşılaştırması**

S-S grubu ortalaması hem KP hem de KP-S grubunun 2 ve 6. aylarında yüksek bulunmuştur ( $p\leq 0.05$ ).

#### **4.6 Tükürük Total Antioksidan Kapasite Korelasyon Analizi**

T-TAOK ile sigara paket/yıl değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon mevcut olup, sigara paket/yıl miktarları arttıkça T-TAOK değeri azalmaktadır. T-TAOK değeri ile başlangıç klinik parametreleri arasında negatif korelasyon mevcuttur. Klinik değerler arttıkça T-TAOK değeri azalmaktadır ( $p\leq 0.05$ ).

#### 4.7 Plazma Total Antioksidan Kapasite Korelasyon Analizi

P-TAOK değerinin sigara paket/yıl ile korelasyonu kurulamamıştır. P-TAOK değeri ile başlangıç klinik parametreleri arasında negatif korelasyon mevcut olup klinik değerler arttıkça, P-TAOK değeri azalmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.8 Tükürük Total Antioksidan Kapasite ve Tükürük Akış Hızı Korelasyonu

Başlangıçta T-TAOK değeri ile TAH arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmazken ( $p > 0.05$ ), 2 ve 6. aylarda negatif yönlü anlamlı bir ilişki saptanmıştır ( $p \leq 0.05$ ). Yani TAH artarken T-TAOK değeri azalmaktadır.

### 5. TARTIŞMA

Multifaktöriyel etyolojiye sahip olduğu gösterilmiş olan periodontal hastalıklarda, periodontal yıkımın başlama mekanizmaları henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak, bu mekanizmalardan birinin, periodontal hastalıkta üretimi artan ROT ile, bunlarla mücadele eden antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması olabileceği öne sürülmektedir (4). Yapılan araştırmalar periodontal hastalıkları genellikle düşük antioksidan değerleri ile ilişkilendirilse de, bazı çalışmalarda farklı sonuçlar da elde edilmiştir (11,12). Bu çalışmada periodontal hastalıkta düşük olan antioksidan değerlerinin periodontal tedavi ile düzeliş düzelmediğini irdelemek amacıyla tükürük ve plazmadaki total antioksidan değerlerini araştırdık.

Görülme sıklığı yüksek ve toplumda geniş bir kesimi etkilediği için, kronik periodontitisli hasta grubunu tercih edilmiştir. Sigara yüksek miktarda ROT içermektedir ve periodontitisten sonra ROT/AO dengesini değiştirebilecek en önemli etkidir. Bu nedenle sigaranın AO kapasiteye etkisi olup olmadığı da bu çalışmada araştırıldı (13).

Çalışmamızda literatürle uyumluluk gösterecek şekilde bireyin günde 10 sigaradan fazla sigara içiyor olması şartı ve hiç sigara içmeyen veya en az iki yıl önce sigarayı bırakmış olma kriteri aranmıştır (14,15).

Kısa ömürlü olması ve reaktif yapılarından dolayı antioksidanların tek tek ölçülmesinden ziyade birlikte etkinliklerinin daha yüksek olması nedeniyle total antioksidan kapasitesinin ölçülmesinin daha doğru bilgi sağladığı düşünülmektedir (4). Diab-Ladki tükürükteki üç major antioksidan düzeyinin sağlıklı ve periodontal hastalıklı bireylerde aynı olduğunu fakat TAOK'nin anlamlı derecede düşük bulunduğu bildirmiştir (16). Bu nedenle TAOK ölçümü keşfedilmemiş antioksidanların etkinliğini ölçebildiği için daha avantajlı olarak düşünülmektedir (7).

Periodontal hastalık ile sistemik hastalıklar arasındaki bağlantı giderek kuvvetlenmektedir. Periodontal hastalığa bağlı antioksidan sisteminde oluşan değişimin sistemik yansımaları değerlendirilmede serum ve plazma etkili bir şekilde kullanılmaktadır (3). Bu verilerin ışığında, çalışmamızda antioksidan miktarlarının sistemik olarak da değerlendirilmesi amacıyla, plazma TAOK düzeyleri ve tükürük TAOK değerleri ile aralarında ilişki incelenmiştir.

Tükürük, ağız sağlığının korunması ve idamesi için kritik öneme sahip çok değerli bir vücut sıvısıdır (17). Parotis tükürükteki antioksidanların major kaynağıdır (5). Antioksidan seviyeleri değerlendirilirken, bağışıklık hücreleri ve doku metabolitlerini de içeren DOS yerine tam tükürüğün incelenmesinin daha anlamlı olduğu bildirilmiştir (18). Araştırmamızda çalışmaya dahil edilen bireylerden tam tükürük incelemesi uygun görülmüştür.

TAOK değerlendirmelerinde en sık ferrik indirgeme yeteneği (FRAP), kolaylaştırılmış kemiluminisans (ECL) ve troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAK) sistemleri kullanılır. Çalışmamızda TAOK değerlendirmesinde daha sık kullanılan TEAK sistemini seçtik. TEAK sisteminin esası, SR üreten bir sisteme örneğin eklenmesi ile SR inhibisyonunun miktarının ölçülmesine dayanır.

Çalışmamızda literatürdeki araştırmalara benzer şekilde, periodontal hastalıklarda görülen T-TAOK değerlerindeki düşüşün istatistiksel anlamlılıkta olmadığı bulunmuştur (4,11,12). Çalışmamızla bazı metodolojik farklılıklara sahip olan araştırmalar ise periodontitiste tükürük TAOK değerlerinin istatistiksel olarak sağlıklı bireylerden düşük bulunduğu öne sürülmüştür (16,19). Çanakçı ve ark.'nın periodontal hastalıklı veya sağlıklı hamilelerde tükürük TAOK'nin periodontitise bağlı olarak düştüğünü göstermişler ve periodontal hastalığın düşük TAOK ve artmış oksidatif stres ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. TEAK yönteminin kullanıldığı uyarılmış tükürükte yaptıkları bir başka çalışmada periodontal hastalıklı bireylerde tükürüğün üç ana antioksidanın anlamlı değişim olmasa da, TAOK'nda düşüş olduğunu saptamışlardır (16). Fakat çalışmamızdan farklı olarak sigara tüketimi dikkate alınmamıştır. Araştırmamızda, KP ve S grupları arasında TAOK seviyelerinde istatistiksel farklılık bulunmazken, KP-S ve S-S grupları arasında TAOK seviyelerinin, sağlıklı grupta yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca S-S grubu, sadece KP-S grubundan değil KP ve S gruplarının da başlangıç değerlerinden ve çalışma gruplarında periodontal tedaviler sonrası 2. ve 6. ay değerlerinden benzer şekilde yüksek değerler göstermektedir. Örneklerin biyokimyasal analiz öncesi saklama koşullarının bizim çalışmamızdan farklı olduğu bu araştırmada, tükürük örnekleri -20

derecede saklanmıştır. Oysa, -20 derecede saklanmış serumda TAOK'nin %30 düştüğünü bilindiği için örneklerin antioksidan kapasitelerinin bozulmaya maruz kalabileceği düşünülmektedir (20). Ayrıca sözü edilen araştırmada hastalık parametrelerinde gingivitisli hasta grubunun seçilmiş olması sonuçları etkileyebilir.

Çalışmamızda, S-S grubunda diğer tüm gruplarda ve tüm ölçüm dönemlerinde antioksidan düzeylerinde gözlenmiş olan artışın, vücutta ağız içine benzer şekilde dış ortama açık başka bir epitel olan alveolar epitelin örnek alınması ile açıklanabileceği düşünülmektedir. Serbest radikal atağına açık olan hava yollarını veya alveolar epiteli yıkayan sıvıda yüksek miktarlarda GSH üretimi olduğu gösterilmiş ve alveolar epiteli yıkayan sıvıda varolan bu artmış GSH seviyesinin, sigara içen sağlıklı bireylerde, içmeyenlere kıyasla iki kat fazla bulunduğu bildirilmiştir. (21). Fakat, sigara dumanındaki ROT'ne bağlı doku hasarından korunma amacıyla vücudun geliştirdiği adaptif bir mekanizma sonucu akciğerleri yıkayan sıvıda artan bu antioksidan miktarının herşeye rağmen sigara dumanına bağlı epitel hücre hasarının önüne geçemediği de gösterilmiştir (22). Akciğer epiteline benzer şekilde dış ortamın etkilerine açık olan bağlantı epitelini kaplayan DOS'nın da, GSH gibi thiol içeren bir antioksidana sahip olduğu göz önüne alınırsa (21) çalışmamızda, sağlıklı sigara içenlerde saptadığımız antioksidan artışının, akciğerlerdeki gibi adaptif bir mekanizmanın sonucunda meydana gelme olasılığına sahip olduğu ve bu konuyu inceleyen daha ayrıntılı araştırmalara gerek duyulduğu kanısındayız.

Çalışmamızın cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası T-TAOK sonuçları KP ve KP-S grubunda, başlangıç tedavisi sonrası tükürük TAOK değerlerinde hem 2. hem de 6. ayda sayısal olarak artışa rastlanmış fakat bu ölçümler başlangıca göre anlamlı bulunmamıştır. Bunun sebebinin başlangıç tedavisi sonucunda ileri generalize kronik periodontitisli hastalarda yeterli iyileşmenin sağlanamaması olduğu düşünülmektedir.

Çalışma grubunun tedavi sonrası artmış antioksidan değerleri ile sigara içmeyen kontrol grubunun değerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamış olup bu sonuç tedavi sonrası antioksidan seviyesinin kontrol grubunun seviyesine ulaştığını ortaya koymaktadır. Tedavi ile azalan ROT miktarının, bu artışta rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışma gruplarında antioksidan seviyelerinin, tedavi ile ne kadar artış gösterse de başlangıçta tüm gruplardan yüksek bulunan sigara içen sağlıklı grubun seviyesine ulaşmadığı bulunmuştur. Bu sonucun elde edilmesinde, daha önce bahsedilen sigara içen periodontal sağlıklı bireylerde, adaptif bir mekanizma ile, lokal antioksidan üretimine geçilmesinin rol oynadığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda sigara içmeyen KP grubunda, tedavi öncesi plazma TAOK değerleri, sigara içmeyen sağlıklı gruptan istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşük bulunmuştur. Sigara içmeyen periodontal hastalıklı ve sağlıklı bireylerde yaptıkları kesitsel bir çalışmada plazma ve DOS TAOK değerlerini incelenmiş olup periodontal hastalıkta bu değerlerde düşüş olduğunu bildirmiştir. DOS TAOK değerlerinde düşüş anlamlı iken plazma TAOK değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (9). Benzer şekilde periodontitisli ve sağlıklı bireylerde hem sistemik hem de lokal TAOK'nin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise tükürük, DOS, serum ve plazma TAOK değerleri periodontal hastalıkla ilişkili olarak düşük olduğu izlenirken sadece DOS ve plazmadaki TAOK değerlerinin istatistiksel olarak anlamlılık taşıdığı ifade edilmiştir (4). Çalışmamızda sigara içmeyen grubun hasta seçim kriterleri açısından bu araştırma ile bazı farklılıklarımız mevcut olup, kriterlerindeki bu farklılığın P-TAOK sonuçlarına yansıdığı düşünülmektedir.

Sigara içmeyen KP hasta grubunda, cerrahi olmayan başlangıç tedavisi sonrası, plazma TAOK değerlerinde, hem 2. hem de 6. ayda başlangıca kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış bulunurken 2 ve 6. aylar arasında belirgin ve istatistiksel bir farklılık elde edilmemiş ve 6. ayın sonunda KP grubunda tedavi sonrasında artmış olan tükürük TAOK değerleri ile sağlıklı grubun değerleri arasında herhangi bir istatistiksel farklılık saptanmamıştır. KP-S grubunda başlangıçta KP grubundan düşük bulunan değerler tedavi ile bir miktar yükselmiş olsa da sigara içmeyen gruptan düşük kalma eğilimindedir. Bu sonucun, hücre dışı ROT kaynağı olan sigaranın başka bir ROT kaynağı olan periodontal hastalığa eklenmesi ve tedavi ile iltihabi durum kaynaklı ROT'un ortamdaki uzaklaşırken, sigara kaynaklı oksidatif stresin sürmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu sebepten dolayı KP-S grubunun, tedavi sonrası P-TAOK değerlerinde KP grubu kadar olmasa da bir miktar artış gözlemlendiği düşünülmektedir. Çalışmamızla benzer şekilde Chapple periodontitisli ve sağlıklı bireylerde DOS ve plazmada TAOK değerlerini incelemiş ve tedavi öncesi ve sonrası plazma TAOK değerlerini kontrol grubu değerlerinden farklı bulmamıştır. Araştırmacılar, istatistiksel anlamlılığa ulaşmamış olsa da kontrol grubunun plazma TAOK değerlerinin periodontitis grubundan daha yüksek olduğunu ve başarılı periodontal tedavi ile plazma TAOK değerlerinde artış gözlemlendiğini ancak bunun anlamlı bir değişim olmadığını ifade etmişlerdir (7).

S-S grubu P-TAOK değerleri sigara içmeyen sağlıklı ve periodontitisli grupların tüm ölçüm dönemlerinde elde edilen değerlerinden anlamlı şekilde



yüksek bulunmuştur. S-S grubunda rastladığımız ve T-TAOK değerleriyle de paralellik gösteren bu durumun sigara içen bireylerde vücudun adaptif mekanizmalarına bağlı olarak artmış lokal antioksidan üretimi ile ilişkili olabileceği varsayılabilir.

Çalışma gruplarının başlangıç TAH periodontitisli bireylerde yüksek olsa da istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. Brock ve arkadaşları da periodontitisli ve sağlıklı gruplarda uyarılmış ve uyarılmamış tükürük örneklerinde TAH arasında fark bulunmamıştır (4). Çalışmamızda çalışma gruplarının başlangıç TAH'ları tedavi ile 2 ve 6. ayda sayısal olarak artmış olsa da, bu artış yalnızca KP grubunun 0 ve 2. ayları arasında istatistiksel olarak anlamlıdır. Araştırmamızda literatürle uyumlu olacak şekilde, çalışma grupları ve kontrol gruplarının kendi aralarında TAH miktarları açısından bir fark bulunmamış (4,13), dolayısıyla sigara kullanımının bu parametreye bir etkisinin olmadığı düşünülmüştür.

TAOK konsantrasyonunun TAH'na bölünmesiyle elde edilen, TAOK-AH parametresi, periodontitisli çalışma gruplarında, kontrol gruplarından sayısal olarak düşük bulunmuş olsa da istatistiksel olarak sadece S-S grubu ile KP ve KP-S grupları arasında anlamlı farklılık elde edilmiştir. Literatürde çalışmamıza benzer şekilde periodontitisin düşük TAOK-AH değerleriyle ilişkilendirildiği çalışmalar mevcuttur (6,13).

Çalışmamızda, periodontitisli gruplarda TAOK-AH değerlerinin tedavi ile yükselmesi beklenirken istatistiksel açıdan olmasa da sayısal olarak düştüğü görülmüştür. Başlangıçta yalnızca kontrol gruplarından S-S grubu periodontitisli gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek TAOK-AH değerlerine sahip bulunmuşken, tedavi sonrası 2. ve 6. ayda TAOK-AH değerlerinin başlangıça göre daha da düşmesi ile kontrol gruplarının ikisi de çalışma gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek TAOK-AH değerlerine ulaşmıştır. Tedavi ile artan TAOK değerlerinin yine tedavi ile artan TAH miktarına bölünmesinden dolayı TAOK-AH değerlerindeki bu düşüşün meydana geldiği düşünülmektedir. Tedavi ile periodontitisli bireylerin TAOK-AH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artışa rastlamadığımız araştırmamızın bu sonuçları Guentsch ve arkadaşlarının bulguları ile uyumluluk göstermektedir (13).

Çalışmamızda T-TAOK ve P-TAOK değerleri ile sigara paket/yıl arasındaki korelasyonlar incelenmiştir. T-TAOK ile sigara paket yıl miktarları arasında negatif yönde bir korelasyona rastlanmış ve sigara paket yıl miktarının artışı ile T-TAOK seviyelerinin düştüğü bulunmuştur. Agnihotri ve arkadaşlarının sigara kullanma miktarlarına göre hiç kullanmayan, hafif ve ağır içici olarak üçe ayırmış oldukları gruplarda, enzimatik bir

antioksidan olan SOD miktarlarının, sigara kullanım düzeyi arttıkça düştüğü bulunmuştur (23).

TAOK ile TAH arasındaki korelasyon incelemesinde başlangıçta herhangi bir ilişki bulunmamış olsa da tedavi sonrası 2. ve 6. aylarda anlamlı negatif korelasyona rastlanmıştır. Tükürükte antioksidan seviyesini gösteren iki parametreden TAOK ve TAH'na bölünmesiyle elde edilen TAOK-AH parametrelerinin çalışmamızın sonuçlarına göre birbiri ile paralellik göstermediği bulunmuştur. Periodontal tedavi ile hem T-TAOK hem de P-TAOK değerlerinde sayısal olarak artış izlenmiş olmasına rağmen, TAOK-AH değerleri azalmış olarak bulunmuştur. Çok hassas yapılması gereken uyarılmamış tükürük toplama işleminin kliniğimizin çalışma koşulları nedeniyle muhtemelen gerektiği kadar hassasiyetle gerçekleştirilememiş olduğundan tükürük antioksidan miktarlarının değerlendirilmesinde TAOK-AH yerine ve T-TAOK değerlerinin daha doğru bilgi sağladığı kanısındayız.

Çalışmamızın tüm klinik ve biyokimyasal sonuçları birlikte göz önüne alındığında T-TAOK ve P-TAOK değerlerinin klinik parametrelerle negatif korelasyon içinde olduğu görülmektedir. Periodontal hastalığı olan bireylerde, sağlıklı bireylerden daha düşük antioksidan değerleri bulunmuş ve tedavi ile artış gösterdiği izlenmiştir. Tedavi ile antioksidan değerlerinin yükseldiği ve sağlıklı değerlere ulaştığı gözlemlenmiş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlılık taşımayan ancak sayısal olarak artış eğiliminde olan bu sonuçların daha çok bireyin dahil edildiği kapsamlı çalışmalarla irdelenmesi gerektiği düşüncesindeyiz.

## 6. SONUÇ

Tüm bu sonuçların ışığında periodontal hastalıklarda düşük bulunan antioksidan seviyelerinin tedavi ile kontrol grubunun seviyelerine ulaşmıştır. Bu nedenle periodontal hastalıklardaki düşük antioksidan değerlerinin periodontal hastalığın sebebi değil sonucu olduğunu düşünmekteyiz. Sigaranın sağlıklı bireylerin antioksidan seviyelerinde neden olduğu artışın sebebi bu çalışmanın sınırları dahilinde açıklığa kavuşmamıştır. İleride bu konuyu aydınlatacak, ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği kanısındayız.

## KAYNAKÇA/REFERENCES

1. Polson AM, Goodson JM. Periodontal diagnosis. Current status and future needs. *J Periodontol* 1985;56:25-34
2. Lamster IB, Novak MJ, Lamster IB, Novak MJ. Host mediators in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992;3:31-60

3. Chapple ILC, Milward MR, Dietrich T. The Prevalence of Inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *J Nutr* 2007;137:657-664
4. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple, IL. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol* 2004;31:515-521
5. Nagler RM, Klein I, Zarzhevskyn N, Drigues N, Reznick AZ. Characterization of differentiated antioxidant profile of human saliva. *Free Rad Biol Med* 2002;32:268-274
6. Sculley DV, Langley-Evans SC. Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin Sci (Lond)* 2003;105:167-172
7. Chapple IL, Brock GR, Milward MR, Ling N, Matthews JB. Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect? *J Clin Periodontol* 2007;34:103-110
8. Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reaktif oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;10:458-476
9. Chapple ILC, Brock G, Eftimiadi C, Matthews JB. Glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *J Clin Pathol* 2002;55:367-373
10. Tsai CC, Chen HS, Chen SL, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung, CC. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 2005;40:378-384
11. Moore S, Calder KRC, Miller NJ, Rice –Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radical Research* 1994;21:417-425
12. Buduneli N, Kardeşler, L, Işık, H, Willis CS, Hawkins SI, Kinane DF. Effects of smoking and gingival inflammation on salivary antioxidant capacity. *J Clin Periodontol* 2006;33:159-164
13. Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockman E, Sigusch, BW. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effects of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Invest* 2008;12:345-352
14. Zappacosta B, Persichilli S, Mordente A, Minucci A, Lazzaro D, Meucci E, Giardina B. Inhibition of salivary enzymes by cigarette smoke and the protective role of glutathione. *Human & Experimental Toxicology* 2002;21:7-11
15. Zappacosta B, Persichilli S, De Sole P, Mordente A, Giardina B. Effect of smoking one cigarette on antioxidant metabolites in the saliva of health smokers. *Arch Oral Biol* 1999; 44:485-488
16. Diab-Ladki R, Pellat B, Chahine R. Decrease in the total antioxidant activity of saliva in patients with periodontal diseases. *Clin Oral Investig* 2003;7:103-107
17. Humpherey SP WRT. A review of saliva: normal composition, flow and function. *Journal of prosthetic dentistry AD* 2001;85:162-169
18. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva-a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13:197-212
19. Canakci CF, Cicek Y, Canakci V. Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochemistry (Mosc)* 2005;70:619-628
20. Chapple IL, Mason GI, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SR, Whitehead TP. Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann Clin Biochem* 1997;34(4),412-421
21. Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol* 1997;24:287-296
22. Rahman I, MacNee W. Lung glutathione and oxidative stress: implications in cigarette smoke-induced airway disease. *Am J Physiol (Lung Cell Mol Physiol 21)* 1999;277:L1067-L1088
23. Agnihotri, R, Pandurang P, Kamath SU, Goyal R, Ballal S, Shanbhogue AY, Kamath U, Bhat GS, Bhat KM. Association of cigarette smoking with superoxide dismutase enzyme levels in subjects with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2009;80:657-662