

SİGARA İÇEN VE İÇMEYEN DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ ÖĞRENCİLERİNDE SERUM VE DİŞETİ OLUĞU SIVISINDA IgG ALTGRUPLARININ BELİRLENMESİ*

THE DETERMINATION OF THE EFFECT OF SMOKING ON SERUM AND GINGIVAL CREVICULAR FLUID IgG SUBCLASSES IN DENTAL STUDENTS

KAYA EREN¹, NURDAN ÖZMERİÇ², EMİNE E. ÇOPUR ALAADDİNOĞLU², BELGİN BAL³, GÖNEN ÖZCAN¹, İLYAS TEKİN⁴

ÖZET

Yukarıda zikredilen çalışmada sigara içme alışkanlığının serum immünglobulin G (IgG) altgrupları konsantrasyonu üzerine etkisinin olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmamızın amacı, sigara içme alışkanlığının serum ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) IgG altgruplarının düzeylerine olan etkilerini, sistemik açıdan sağlıklı 21 dişhekimliği öğrencisinde araştırmaktır. Tüm bireylerde plak indeksi (PI), gingival indeks (Gİ), dişeti çekilmesi ve cep derinliği (CD) ölçümleri yapıldı. Serum ve DOS IgG alt grupları ELISA yöntemi ile belirlendi. Sigara içen ve içmeyen bireylerden oluşan iki grup arasında tüm ağız PI değerleri açısından anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p<0.01$). Gruplar arasında serum ve IgG altgrupları düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Tüm ağıza ait Gİ ortalamaları ile DOS IgG2 düzeyi arasında ve CD ile DOS IgG3 düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptandı ($p<0.01$). DOS sıvısının toplandığı dişlere ait CD ortalaması ile DOS IgG2 düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptandı ($p<0.05$). Çalışmamızda, sigara içen ve içmeyen gruplar arasında IgG altgrupları açısından anlamlı bir farklılık saptanamamış olmasına rağmen sigaranın periodontal hastalık için bir risk faktörü olduğu bilindiğinden, IgG dışında başka kompleks immünolojik mekanizmaların periodontal hastalığa yatkınlık oluşturmada rol oynayabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler : Sigara kullanımı, İmmünglobulin G, Dişeti cep sıvısı, Serum

SUMMARY

Recent studies have demonstrated that smoking has an effect on serum immunoglobulin G (IgG) subclass concentrations. The aim of our study was to investigate the effect of smoking on both serum and gingival crevicular fluid (GCF) IgG subclasses in 21 systemically healthy dental students. The plaque index (PI), gingival index (GI), gingival recession and probing pocket depth (PPD) measurements were obtained from all subjects. Serum and GCF IgG subclasses were determined by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The concentration of IgG subclasses in GCF and serum did not differ between the smokers and non-smokers. Regarding the clinical variables, there was a significant difference in PI of entire mouth between the both groups ($p<0.01$). While the GI of entire mouth correlated with the GCF IgG2 subclass, there was a significant correlation between PPD and IgG3 subclass ($p<0.01$). Furthermore, the mean of PPD of sampled tooth correlated with GCF IgG2 subclass ($p<0.05$). Although no difference was observed in serum and GCF IgG subclasses between the smokers and non-smokers, complex immunologic mechanisms other than IgG could play role in making the smokers more prone to periodontal disease as smoking has been accepted as a risk factor.

Key words : Smoking, Immunoglobulin G, Gingival crevicular fluid, Serum

* Bu çalışma Türk Periodontoloji Derneği 29. Bilimsel Kongresi 9-13 Mayıs, 1999, Antalya, Türkiye'de sunulmuştur.

1 Prof. Dr. GÜ Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı

2 Dr. Dr. GÜ Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı

3 Dr. GÜ Tıp Fakültesi İmmünoloji Bilim Dalı

GİRİŞ

Sigara kullanımı birçok hastalık için bir risk faktörüdür, aynı zamanda bu alışkanlığın, periodontal dokularda olumsuz etkileri olduğu yönünde bilgiler mevcuttur^{1,2,3}. Bu konu ile ilgili olarak yapılan çeşitli çalışmalarda, sigara kullanımının periodontal tedaviye ve periodontopatik mikrobiyal flora cevaplarına yönelik etkileri incelenmiştir. Genelde elde edilen bulgular, sigara içen bireylerin periodontal tedaviye istenilen düzeyde cevap veremedikleri, özellikle rejeneratif tedavi uygulanan sigara içen bireylerde, içme yenilere göre daha az oranda rejenerasyon elde edilebilirliği yönündedir^{2,25,26}. Her ne kadar sigara kullanımı ile periodontal hastalık arasında kuvvetli bir ilişki olduğu kabul edilse de, sigaranın periodontal hastalık patogenezi üzerine etkileri henüz kesinlik kazanmamıştır. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, periodontitisli sigara içen ve içmeyen bireylerde, periodontopatojenler incelenmiş ve bu iki hasta grubunda da oldukça benzer bir mikroflora tespit edilmiştir^{24,28}. Ayrıca, sigara kullanımının periodontal patojenlere karşı gelişen immün cevabı etkileme yoluyla periodontal hastalıkları şiddetlendirdiği yönünde bilgiler literatürde yer almıştır. Bu çalışmalara göre sigara kullanımının konağın immün sistemini baskılama²⁹, antikor üretimini azaltma⁴ ve immünoregülatuar T hücreleri alt grubu oranlarını değiştirme⁹ gibi etkileri bulunmaktadır. Aynı zamanda tütün dumanı polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) aktivitesini baskılayarak, PMNL'lerde azalmış motilite⁸, azalmış oranda komotaktik migrasyon³⁰ ve azalmış fagositik aktiviteye³¹ neden olmaktadır. İn vitro koşullarda sigara dumanından etkilenmiş B ve T lenfositlerinin proliferatif kapasitelerindeki azalmanın, oral patojenlere karşı koruyucu immünooglobülinlerin üretimini sınırlayabileceğini düşündürmüştür².

İnsanlarda farklı yapısal ve biyolojik özelliğe sahip dört immünooglobülin G (IgG) alt grubu bulunmaktadır. Bu alt gruplar farklı antijenlere karşı farklı cevaplar geliştirirler. Örneğin viral proteinler primer olarak IgG1 ve IgG3'ü stimüle ederken, bakteriyel lipopolisakkaritlere yanıt olarak IgG2 alt grubu stimüle olmaktadır^{15,22,23}. Gursolloy ve arkadaşlarının^{11,26,27} yaptıkları çalışmalarda, sigara içiminin serum IgG2 konsantrasyonlarını etkilediği bildirilmiştir.

Çalışmamızda da bu amaçla, sigara içen ve içmeyen bireylerde, IgG alt grubu düzeylerinin serum ve dişeti oluğu sıvılarında (DOS) belirlenmesi ve bu değerlerin klinik indeks değerleriyle korelasyonlarının saptanması hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Dişhokimliği Fakültesi 4. sınıf öğrencilerinden (yaş ort: 21,6±1,2) sistemik açıdan sağlıklı, son 6 ay içerisinde antibiyotik kullanmamış ve periodontal tedavi görmemiş 10 kişiyi 21 birey onayları alınarak çalışmamıza dahil edildi. Son 3 yıldır, günde 10 adetten fazla sigara içen bireylerden 11'i (S+) grubunu, sigara içmeyen 10 birey ise (S-) grubunu oluşturdu.

Hastaların oral hijyen ve periodontal sağlıklarının değerlendirilmesi amacıyla Plak İndeksi³² (PI), Gingival İndeks³³ (GI), dişeti çekilmesi ve cep derinliği (CD) ölçümleri yapıldı. Molar bölgelerden bite-wing radyograflar elde edildi. Klinik dogişkonlor, tüm ağız ve DOS'un toplandığı dişleri içeren örnekleme bölgeleri ortalamaları olarak hesaplandı. Daha sonra tüm bireylerin DOS IgG alt gruplarının belirlenmesi amacıyla Rüdın ve arkadaşları³⁴ tarafından 1970 yılında tanımlanan teknikle üst 6 anterior dişten 30 sn süreyle, kağıt şeritler yardımıyla DOS toplandı.

Serum IgG alt gruplarının belirlenmesi amacıyla da yine tüm bireylerden 3cc venöz kan örnekleri alındı. Tüm örnekler IgG alt grubu tespitinin yapılacağı güne kadar -70 °C de saklandı.

IgG alt grubu tespitinin yapılacağı gün, DOS ve serum örnekleri oda ısısında çözöldü. 400 µl Fostatta tamponlanmış saline, %0.05'lik Tween 20 (PBST, pH 7,4) ve %0.8'lik bovino serum albumin (BSA) karışımı ile DOS örnekleri dilüe edilerek 3 dk süreyle santifüj edildi. Serum örnekleri 1/4 oranında PBST solüsyonuyla sulandırıldı.

DOS ve serum örneklerindeki IgG alt grupları ELISA (enzymic linked immunoassay) yöntemi ile

II IgG-Subklassen (Kombi) Enzyme Immunoassay auf Antikörper-Subklassen Best. Nr.: E1 08.04 Ch. B. 70577 IRI GmbH Flußhafen Str. 52a 22335 Hamburg

tespit edildi⁷. Donay aşaması imalatçı firmanın önerdiği şekilde gerçekleştirildi. Optik densite, 450 nm dalga boyuna ayarlanmış bir spektrofotometre ile ölçüldü. Örnekler ağız içi IgG altgrupları bilgisayarda elde edilen standard kalibrasyon eğrisi yardımıyla saptandı.

Gruplara ait indeks değerleri ile serum ve DOS IgG altgruplarına ait ortalamalar arasındaki farklılıklar Mann Whitney U testi ile, indeks değerleri serum ve DOS IgG altgruplarına ait ortalamalar arasındaki korelasyon ise Wilcoxon Matched Pairs Signed Rank bağımlı analiziyle incelendi.

BULGULAR

S₊ ve S₋ grupları, tüm dişlere ait klinik indeks ortalamaları açısından karşılaştırıldığında, PI ortalaması S₋ grubunda, S₊ grubuna oranla daha yüksek olduğu (p<0.01), ancak diğer değerler açısından anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı (Tablo I).

DOS örneklerinin toplandığı altı diş ağız ait klinik değişkenlerin gruplar arasındaki farklılıklarını incelendiğinde değerlendirilmeye alınan kriterler açısından istatistiksel olarak anlamlı gösteren herhangi bir farklılık bulunamamıştır (Tablo II).

S₊ ve S₋ gruplarına ait serum IgG altgruplarının ortalamaları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (Tablo III). DOS IgG altgruplarının ortalamaları karşılaştırıldığında ise, S₊ ve S₋ gruplarına ait bu değerler açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (Tablo IV).

Tablo I. Grupların tüm dişleri içine alan klinik değişkenlerin ortalamaları (Ort. ± SD)

Klinik Değişkenler (tüm ağız)	S ₋ (n=10)	S ₊ (n=11)	p değeri
Plak İndeksi	0,74±0,67	0,48±0,32	0,005**
Gingival İndeks	0,24±0,21	0,19±0,09	0,076
Cep Derinliği(mm)	1,74±0,29	1,67±0,27	0,982
Dişeti Çökmesi(mm)	0,04±0,02	0,01±0,1	0,800

S₋: Sigara içmeyenler, S₊: Sigara içenler **p<0.01

Tablo II. Grupların anterior altı dişi içine alan klinik değişkenlerin ortalamaları (Ort. ± SD)

Klinik Değişkenler (örnekleme bölgesi)	S ₋ (n=10)	S ₊ (n=11)	p değeri
Plak İndeksi	0,54±0,76	0,28±0,57	0,054
Gingival İndeks	0,11±0,14	0,06±0,10	0,502
Cep Derinliği(mm)	1,16±0,22	1,16±0,19	0,584
Dişeti Çökmesi(mm)	0,02±0,01	0,01±0,10	0,061
DOS hacmi	1,73±0,40	1,71±0,58	0,952

S₋: Sigara içmeyenler, S₊: Sigara içenler

Tablo III. Serum IgG altgrupları Konsantrasyon Ortalamaları (ng/ml ± SD)

IgG Altgrupları	S ₋ (n=10)	S ₊ (n=11)	p değeri
IgG1	8,92±1,62	8,53±3,85	0,140
IgG2	2,11±0,35	2,09±0,39	0,967
IgG3	0,49±0,04	0,47±0,09	0,071
IgG4	0,40±0,12	0,44±0,18	0,271

S₋: Sigara içmeyenler, S₊: Sigara içenler

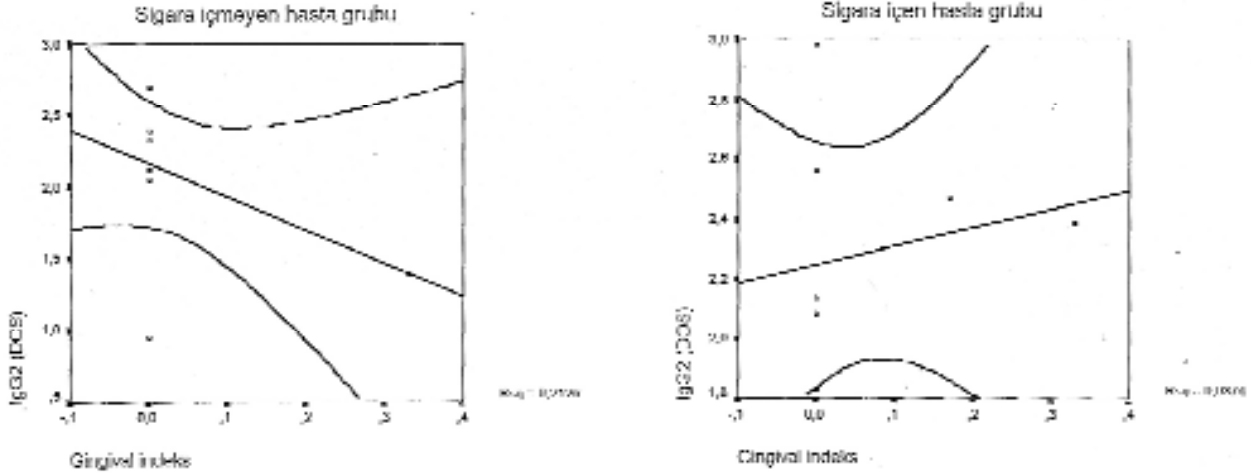
Tablo IV. DOS IgG altgrupları Konsantrasyon Ortalamaları (ng/ml ± SD)

IgG Altgrupları	S ₋ (n=10)	S ₊ (n=11)	p değeri
IgG1	2,86±1,42	3,2±0,76	0,422
IgG2	2,29±0,39	2,07±0,55	0,530
IgG3	0,23±0,08	0,19±0,07	0,321
IgG4	0,35±0,14	0,27 ± 0,16	0,914

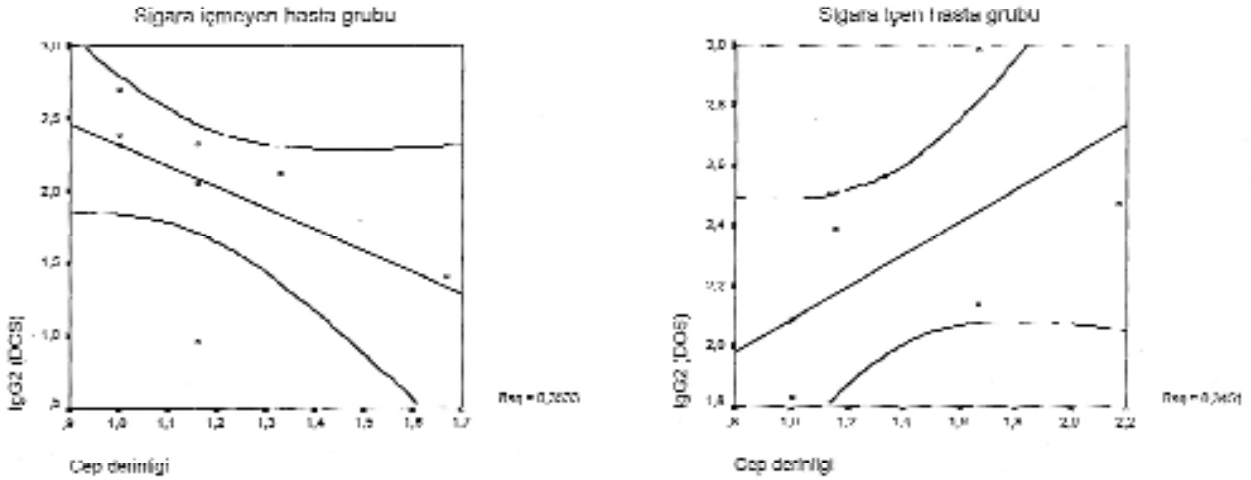
S₋: Sigara içmeyenler, S₊: Sigara içenler

Serum IgG altgruplarına ait konsantrasyonlar incelendiğinde sigara içen bireylerde IgG4 dışında tüm altgruplarda bir düşüş olduğu, DOS IgG konsantrasyonlarında ise yine sigara içen bireylerde IgG1 dışında tüm IgG altgrubu konsantrasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı olmayan düşük değer gösterdiği gözlemlendi (Tablo III ve IV).

Klinik indeks ortalamalarıyla serum ve DOS IgG altgrubu ortalamaları arasındaki korelasyonlar incelendiğinde her iki grupta da tüm ağıza ait G1 ortalamasıyla DOS IgG2 değerleri arasında (Şekil 1 ve 2), G1 ortalamasıyla DOS IgG3 değerleri arasında ise



Şekil 1,2. Dişeti Oluğu Sıvısı IgG2 konsantrasyonlarıyla Gingival İndeks değerleri arasındaki korelasyon ($p<0.01$).



Şekil 3,4. Dişeti oluğu sıvısı IgG2 konsantrasyonlarıyla cep derinliği ortalamaları arasındaki korelasyon ($p<0.05$).

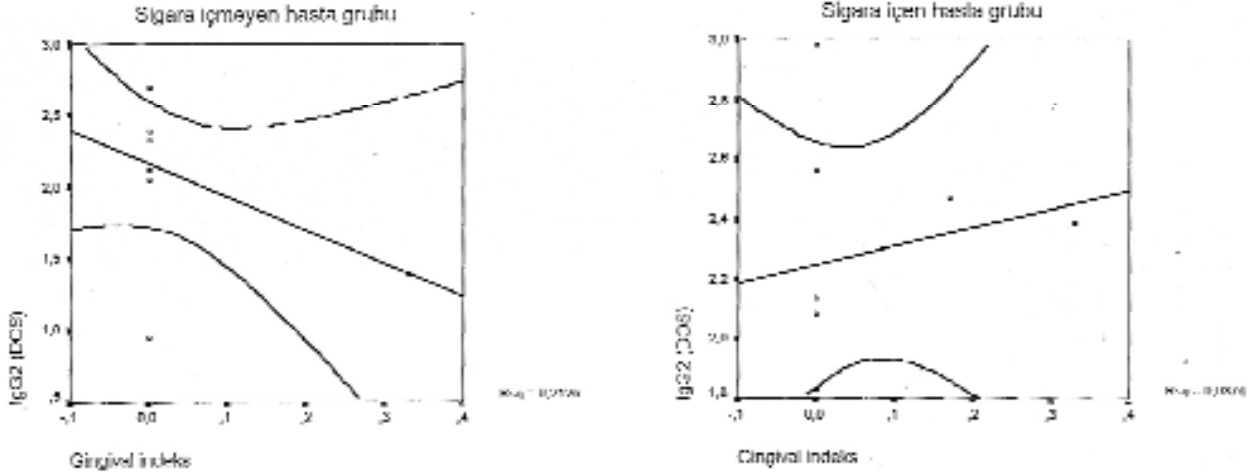
$p<0.01$ oranında önemlilik gösteren bir korelasyon bulunmuştur. Örnekleme bölgelerine ait CD ortalamasıyla ise yine DOS IgG2 konsantrasyonları arasında $p<0.05$ seviyesinde önemli bir ilişki saptanmıştır (Şekil 3 ve 4).

TARTIŞMA

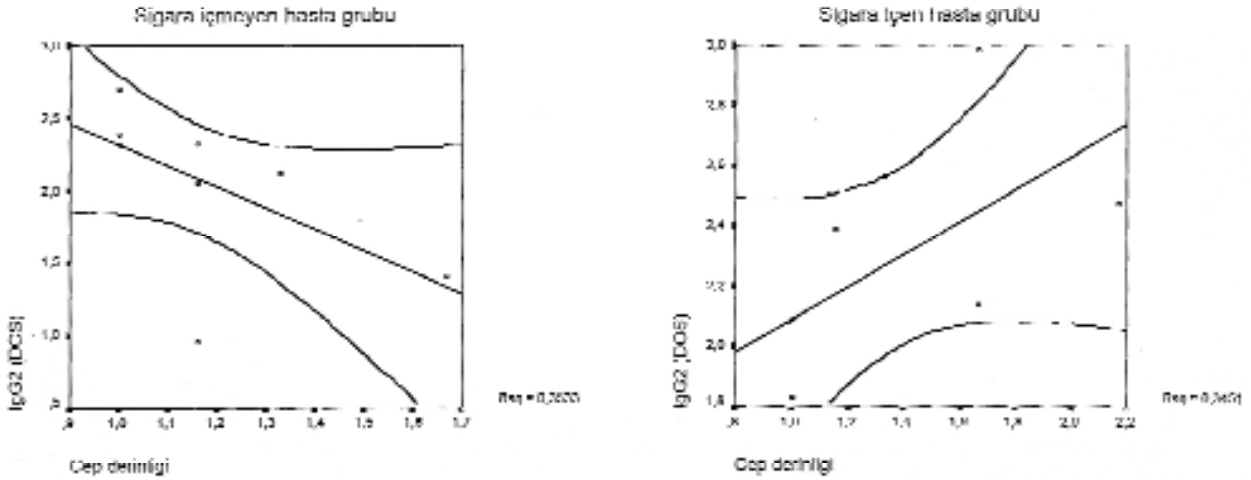
Sigara içen ve içmeyen bireylerde klinik indeks değerleri ve serum ve DOS'taki IgG miktarları arasındaki korelasyonu değerlendirmeyi amaçladığımız bu çalışmada deney ve kontrol grubu periodontal açıdan sağlıklı ya da minimal enflamasyon gözlenen bireylerden oluşmaktaydı. Klinik değişkenlerle sigara kullanımı arasındaki korelasyonu değerlendirmeyi

amaçlayan pekçok epidemiyolojik ve klinik çalışmada dişeti enflamasyonunun ve gingival kanamanın sigara içen bireylerde baskılandığı ve atışman kaybının arttığı ortaya konmuştur^{14,15}. Bergström ve arkadaşları², deneysel gingivitis geliştirdikleri bireyler de damarsal yapıyı incelemişler ve sigara içmeyenlerde damarlanmanın daha yoğun olduğunu bulmuşlardır. Ancak hafif ya da hiç enflamasyon gözlenmeyen bireylerde sigara içimine bağlı olarak GI değerlerinde ve damar sayısında sigara içen ve içmeyen bireylerde bir farklılık bulunamamıştır.

Çalışmamıza dahil edilen grupların klinik bulguları arasında Pİ değerleri dışında bir farklılık belirlenmemiştir. Holmes ve arkadaşları¹⁶ yaptıkları orta



Şekil 1,2. Dişeti Oluğu Sıvısı IgG2 konsantrasyonlarıyla Gingival İndeksi değerleri arasındaki korelasyon ($p<0.01$).



Şekil 3,4. Dişeti oluğu sıvısı IgG2 konsantrasyonlarıyla cep derinliği ortalamaları arasındaki korelasyon ($p<0.05$).

$p<0.01$ oranında önemlilik gösteren bir korelasyon bulgulanmıştır. Örnekleme bölgelerine ait CD ortalamasıyla ise yine DOS IgG2 konsantrasyonları arasında $p<0.05$ seviyesinde önemli bir ilişki saptanmıştır (Şekil 3 ve 4).

TARTIŞMA

Sigara içen ve içmeyen bireylerde klinik indoks değerleri ve serum ve DOS'taki IgG miktarları arasındaki korelasyonu değerlendirmeyi amaçladığımız bu çalışmada deney ve kontrol grubu periodontal açıdan sağlıklı ya da minimal enflamasyon gözlenen bireylerden oluşmaktaydı. Klinik değişkenlerle sigara kullanımı arasındaki korelasyonu değerlendirmeyi

amaçlayan pekçok epidemiyolojik ve klinik çalışmada dişeti enflamasyonunun ve gingival kanamanın sigara içen bireylerde baskılandığı ve ataşman kaybının arttığı ortaya konmuştur^{14,15}. Bergström ve arkadaşları², deneysel gingivitis geliştirdikleri bireyler de damarsal yapıyı incelemişler ve sigara içmeyenlerde damarlanmanın daha yoğun olduğunu bulgulamışlardır. Ancak hafif ya da hiç enflamasyon gözlenmeyen bireylerde sigara içimine bağlı olarak GI değerlerinde ve damar sayısında sigara içen ve içmeyen bireylerde bir farklılık bulgulanamamıştır.

Çalışmamıza dahil edilen grupların klinik bulguları arasında Pİ değerleri dışında bir farklılık belirlenmemiştir. Holmes ve arkadaşları¹⁶ yaptıkları orta

şiddette dişeti enflamasyonu gösteren bireylerin dahil edildiği çalışmada, sigara içen ve içmeyen gruplarda benzer Gİ değerlerine rağmen farklı DOS hacmi bulgulanmış ve bu durumu onflamasyona rağmen, geliştirilen immün yanıtta yetersizlik olarak yorumlamışlardır. Preber ve Borgström²² enflamasyon olmadığında sigara kullanan ve kullanmayan bireyler arasında bir farklılık bulgulanmadığını bildirmiştir. Bizim çalışma sonuçlarımız da bu verilerle uyum içerisindedir.

DOS içeriğinin incelenmesi ile konağın geliştirdiği hümmoral ve hüccresel immün yanıt ve akut iltihabi cevabın yapısı hakkında ayrıntılı bilgiler edinilmiştir. 1965 yılında DOS'ta ilk olarak immünoglobülinlerin varlığı tespit edilmiştir⁷. Reinhardt ve arkadaşlarının²³ yaptıkları çalışmada IgG altgruplarının DOS'taki dağılımı incelenmiş ve IgG1 ve IgG4 konsantrasyonu hastalık aktivitesi gösteren bölgelerde istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulgulanmıştır. Lamster ve arkadaşları²⁴ ise klinik ataşman kaybı ve konağın cevabı arasındaki ilişkiyi IgG ve IgM gibi belirleyiciler yardımıyla inceleyerek IgG total miktarının istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir düşüş gösterdiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da hem serum hem de DOS IgG altgruplarına ait değerlerde bu araştırmayla uyumlu şekilde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir düşüş bulgulanmıştır.

Bir başka çalışmada, DOS'ta TNF- α , IgA ve IgG miktarlarını değerlendirmişlerdir, elde ettikleri sonuçlar sigara içiminin DOS'ta IgA ve IgG immünoglobülinlerin seviyelerini etkilemezken TNF- α miktarıyla korelasyon gösterdiği yönündedir⁸. Gunsolley ve arkadaşlarının²⁵ çalışmasında, serumda IgG altgrupları farklı ırk ve farklı periodontal hastalığı olan bireylerde incelenmiştir. Siyah ırkta, erişkin periodontitisli bireylerde IgG1 miktarı sigara içen bireylerde daha düşük, sigara içen generalize orken yerleşen periodontitisli olan siyahlarda ise IgG2 miktarı daha düşük bulgulanmıştır. Beyazlarda ise GM2 allotiplemesi negatif olan grupta IgG2 miktarı daha düşük tespit edilirken, GM2 pozitif olan beyazlarda IgG2 miktarı ile sigara alışkanlığı arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda da sigara içiminden bağımsız olarak cep derinliği ortalamaları ve gingival indeks değerleriyle IgG altgrupları arasında bir kore-

lasyon bulgulanmıştır. Sigara alışkanlığına bağlı olarak IgG altgrupları açısından bir farklılık bulgulayamamış olmamız seçilmiş olan hasta gruplarımızın minimal ya da hiç periodontal hastalık gözlenmeyen bireylerden oluşmasından kaynaklanıyor olabilir. Sigara içen bireylerde serum ve DOS IgG altgrubu konsantrasyonlarında istatistiksel açıdan anlamlı olmayan düşük değerler bulgulanmış olmamız, sigara kullanımının bir ölçüde immün sistemi etkilediği ancak yaş, periodontal hastalığın derecesi gibi birçok diğer faktörün de göz önüne alınması gerektiğini düşündürmüştür. Serum IgG altgruplarıyla sigara kullanımını arasında bir ilişki bulgulayamamış olmasına rağmen pekçok çalışmada sigaranın serum IgG düzeylerinde azalmaya neden olduğu rapor edilmektedir^{1,19,21}. Çalışmamızdaki DOS IgG2 konsantrasyonlarıyla cep derinliği ve gingival indeks ortalamaları arasındaki pozitif korelasyon; bu parametre ile periodontal hastalığın şiddeti arasında bir ilişki olduğunu bildirilen Quinn ve arkadaşlarının²⁶ sonuçlarıyla uyumludur.

Sonuç olarak, çalışmamızda gruplar arasında farklılık saptanamamış olmasına rağmen, sigaranın özellikle ilerlemiş periodontal hastalık için bir risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Sigaraya bağlı periodontal yıkım ve immün sistemdeki değişikliklerin değerlendirilmesi amacıyla yaş ve periodontal hastalık gruplandırılmasının yapıldığı ve daha uzun süre sigara kullanan bireylerin dahil edildiği çalışmaların konuya ışık tutacağı görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Anderson P, Pedersen OF, Rach B, Bonde GJ. Serum antibodies and immunoglobulins in smokers and nonsmokers. *Clin Exp Immunol* 47:467-473, 1982.
2. Axtelius B, Soderfeldt U, Atström R. A multilevel analysis of factors affecting pocket depth in patients responding differently to periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 26:67-76, 1999.
3. Barbour SF, Nakashima K, Zhang JU, Jangada S, Hahn CL, Schenkein HA, Jew JG. Tobacco and smoking: environmental factors that modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. *Crit Rev Oral Biol Med* 8:437-460, 1997.
4. Benet KR, Reid PC. Salivary immunoglobulin A levels in normal subjects, tobacco smokers and patients with minor aphthous ulcerations. *J Oral Surg* 53:461-465, 1982.

5. Bergstrom J, Floredus-Myrhed B. Co-twin control study of the relationship between smoking and some periodontal disease factors. *Community Dent Oral Epidemiol* 11: 113-116, 1983.
6. Rostrom I, Linder I F, Bergstrom J. Clinical expression of INI -alpha in smoking-associated periodontal disease. *J Clin Periodontol* 25:767-773, 1998.
7. Brandtzaeg P. Immunohistochemical comparison of proteins in human gingival pocket fluid, serum and saliva. *Arch Oral Biol* 10:795-803, 1965.
8. Corberand J, Laharrague P, Nguyen F, Dutau G, Fontanilles M, Gkizos D, Gyrard E. In vitro effect of tobacco smoke components on the function of normal human polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun* 30:640-655, 1980.
9. Costabel U, Bross KJ, Heuter C, Huhle KH, Matthys H. Alterations in immunoregulatory T cell subsets in cigarette smokers. A phenotypic analysis of broncho alveolar and blood lymphocytes. *Chest* 90:39-44, 1986.
10. Gerard JW, Heiner DC, Ko CG, Mink J, Meyers A, Dosman JA. Immunoglobulin levels in smokers and non-smokers. *Ann Allergy* 44:261-262, 1980.
11. Gunsolley JC, Pandey JP, Quinn SM, Tew J, Schenk HA. The effect of race, smoking and immunoglobulin allotypes on IgG subclass concentrations. *J Periodont Res* 32:381-387, 1997.
12. Haber J, Kent HL. Cigarette smoking in a periodontal practice. *J Periodontol* 63:100-106, 1992.
13. Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R, Jekshipura K, Kent HL. Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. *J Periodontol* 64:16-23, 1993.
14. Holmes LG. Effects of smoking and/or vitamin C on crevicular fluid flow in clinically healthy gingiva. *Quintessence International* 21:191-195, 1990.
15. Kenney ED, Kraal JI, Saxe SR, Jones J. The effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leukocytes. *J Periodont Res* 12:223-234, 1977.
16. Lamster IB, Oshrain RL, Celenti RS, Fine JB, Grbic JT. Indicators of the acute inflammatory and humoral immune responses in gingival crevicular fluid: Relationship to active periodontal disease. *J Periodont Res* 26:261-263, 1991.
17. Lee H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy (1). Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 21:532-551, 1963.
18. Martinez-Canut P, Lucas A, Magan R. Smoking and periodontal disease severity. *J Clin Periodontol* 22:743-749, 1995.
19. Melnick SL, Engel D, Truclova E. Oral mucosal lesions: association with the presence of antibodies to the human immunodeficiency virus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 68:37-43, 1989.
20. Nobile RC, Penney BB. Comparison of leukocyte count and function in smoking and non-smoking young men. *Immunology* 12:560-565, 1975.
21. O'Keefe S, Grol A, Drury R, Cullina M, Grealley J, Finnegan P. Immunoglobulin G subclasses and spirometry in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 4:932-936, 1991.
22. Papadrea C, Check U. Human immunoglobulin G and immunoglobulin G subclasses: biochemical, genetic, and clinical aspects. *Crit Rev Clin Lab Sci* 27:27-58, 1989.
23. Preber H, Bergstrom J. Cigarette smoking in patients referred for periodontal treatment. *Scand J Dent Res* 94:102-108, 1986.
24. Preber H, Linder L, Bergström J. Periodontal healing and periopathogenic microflora in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol* 22:946-952, 1995.
25. Puxter JJ, Shibley O, Dentino AH, Cianco SG. Results of limited initial periodontal therapy in smokers and non-smokers. *J Periodontol* 68:851-856, 1997.
26. Quinn SM, Zhang JB, Gunsolley JC, Schenk HA, Tew ZG. Smoking and serum IgG subclass concentrations in young adults: impact of race and periodontal status. *Infect Immun* 64:2500-2505, 1996.
27. Quinn SM, Zhang JB, Gunsolley JC, Schenk HA, Tew ZG. The influence of smoking and race on adult periodontitis and serum IgG levels. *J Periodontol* 69:171-177, 1998.
28. Reinhardt RA, McDonald TL, Dalton RW, DuBois LM, Kaldahl WD. IgG subclasses in gingival crevicular fluid from active versus stable periodontal sites. *J Periodontol* 60:44-50, 1989.
29. Renvert S, Dahlen G, Wikstrom M. The clinical and microbiological effects of non-surgical periodontal therapy in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol* 25:153-157, 1998.
30. Rivera-Hidalgo F. Smoking and periodontal disease. *J Periodontol* 57:617-624, 1986.
31. Rudin HJ, Overdiek HF, Rateitschak KH. Correlation between sulcus fluid rate and clinical and histological inflammation of the marginal gingiva. *Helv Odont Acta* 14:21-26, 1970.
32. Schonck K. IgG, IgA, and IgM serum antibodies against lipopolysaccharide from *Bacteriodes gingivalis* in periodontal health and disease. *J Periodontol Res* 20:368-377, 1985.
33. Silness J, Lee H. Periodontal disease in pregnancy (3). Response to local treatment. *Acta Odontol Scand* 24:747-759, 1966.
34. Stoltenberg JL, Osborn JB, Pihlstrom RI, Hertzberg MC, Aepli DM, Wulff LI, Fischer GE. Association between cigarette smoking, bacterial pathogens and periodontal status. *J Periodontol* 64:1225-1230, 1993.
35. Yucesoy V, Balog K. Sigara için ve içmeyin biryilerde periodontal durum ve tedavi ihtiyacının değerlendirilmesi. *GÜ Dişhek Fak Derg* 15:81-88, 1990.

Yazışma adresi
Dr. Nurdan ÖZMERİÇ
GÜ Dişhokimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı
06510 Emek - Ankara