

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

DİABETLİ VE DİABETLİ OLMAYAN KRONİK PERİODONTİTİSLİ
HASTALARDA PERİODONTAL PATOJEN
MİKROORGANİZMALARIN PCR YÖNTEMİ İLE
KARŞILAŞTIRILMASI

Dt. Tuba ŞAHİN ERYAŞAR

Tez Yöneticisi
Prof.Dr.Recep ORBAK

Doktora Tezi
Erzurum - 2008

İÇİNDEKİLER

1. TEŞEKKÜR.....	III
2. ÖZET	IV
3. SUMMARY	VI
4. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
5. GENEL BİLGİ.....	3
5.1. Kronik Periodontitis.....	4
5.2. Kronik Periodontitisin Tipleri.....	4
5.3. Hastalığın İlerlemesi	5
5.4. Kronik Periodontitisin Etyolojisi	5
5.4.1. Mikrobiyal Dental Plak.....	7
5.5. Diabetes Mellitus	15
5.5.1. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırması	16
5.5.2. Diabetes Mellitus'un tanısı	19
5.5.3. Diabetin Komplikasyonları.....	20
5.6. Periodontitis Diabet İlişkisi	21
5.6.1. Tip 2 Diabette Periodontal Durum.....	22
5.7. Diabet Nedeniyle Değişen Konak Mekanizmaları	23
5.7.1. Vasküler Anormallikler	23
5.7.2. Nonenzimatik Glikolizasyon	23
5.7.3. Lipit Metabolizmasındaki Dengesizlikler.....	24
5.7.4. Değişmiş Kollajen Metabolizması.....	25
5.7.5. Nötrofil Disfonksiyonu	25

5.7.6.	Değişmiş Monosit Cevabı.....	26
5.8.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	26
6.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
6.1.	Hasta seçimi	31
6.2.	Klinik Çalışma	32
6.3.	Subgingival Plak Örneklerinin Toplanması.....	33
6.4.	Paper Pointlerden Periodontal Patojen Bakteri DNA İzolasyonu	34
6.5.	Amplifikasyon (Çoğaltma) İşlemi	35
6.6.	Hibridizasyon İşlemi.....	37
6.7.	Sonuç Değerlendirme	41
7.	BULGULAR.....	45
7.1.	Klinik Bulgular	45
7.2.	Laboratuvar Bulguları.....	47
8.	TARTIŞMA	53
9.	SONUÇLAR.....	67
10.	KAYNAKLAR	69
11.	EKLER.....	81

1. TEŞEKKÜR

Çalışmamın başından beri ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim değerli hocam Prof. Dr. Recep ORBAK'a, tez çalışmamda değerli fikirlerinden yararlandığım ve yardımlarını gördüğüm hocalarım Prof. Dr. Adnan Tezel, Prof. Dr. Varol Çanakçı ve emeği geçen bütün arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu süre zarfında beni sabır ve özveri ile destekleyen eşime ve tüm aile fertlerime de şükranlarımı sunarım.

2. ÖZET

Bu çalışmanın amacı, tip 2 diabetli kronik periodontitisli ve nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde periodontal patojen mikroorganizmaların dağılımının PCR tekniği ile tespit edilerek, diabetin periodontal patojen mikroorganizmaların dağılımı üzerinde etkili olup olmadığının değerlendirilmesidir.

Yaşları 38-70 arasında olan 80 kişi (40 erkek, 40 kadın) gönüllü olarak çalışmamıza katıldı. Çalışmaya dahil edilen bireyler tip 2 diabetli kronik periodontitisli, tip 2 diabetli periodontal açıdan sağlıklı, nondiabetik kronik periodontitisli ve nondiabetik periodontal açıdan sağlıklı olmak üzere 4 eşit gruba ayrıldı. Çalışmaya dahil edilen bütün bireylerin PI, GI, KAS ve SD değerleri kaydedildi. Subgingival plak örnekleri hastalıklı bireylerde periodontal yıkımın en fazla olduğu dişlerin mezialinden, sağlıklı bireylerde ise üst 1.molar dişlerin mezialinden paper pointler kullanılarak alındı. Örnekler PCR ile incelendi.

Bireylerden elde edilen klinik ve mikrobiyolojik veriler Ki-kare testi kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi.

Diabetli kronik periodontitisli bireylerin PI, GI, KAS ve SD değerlerinin nondiabetik kronik periodontitisli bireylerden fazla olduğu ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). Diabetli kronik periodontitisli bireylerde en fazla bulunan mikroorganizmalar; Gram (-) anaerob çubuklar (% 80 oranında *P.intermedia*, *T.forsythensis*), Gram (+) anaerob koklar (% 80 oranında *P.micros*) ve spiroketler (% 80 oranında *T.denticola*) olarak tespit edildi. Kronik periodontitisli bireylerde mikroorganizmaların dağılımı incelendiğinde, nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde *P.gingivalis*, *E.nodatum*, *F.nucleatum* ve *C.rectus*'un diabetli kronik periodontitisli bireylerden fazla bulunduğu, farkın istatistiksel olarak anlamlı

olduğu görüldü ($p<0.05$),($p<0.01$). Nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde *A.actinomycetemcomitans* hariç bütün mikroorganizmalar periodontal olarak sağlıklı nondiabetik bireylerden fazla bulundu. *P.gingivalis*, *T.forsythensis*, *T.denticola*, *P.intermedia*, *C.rectus*, *E.nodatum* ve *P.micros* için bu fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulundu ($p<0.001$). Periodontal olarak sağlıklı bireylerde incelenen 11 periodontal patojen mikroorganizmadan 7'si (*A.actinomycetemcomitans*, *T.forsythensis*, *T.denticola*, *P.micros*, *F.nucleatum*, *E.corrodens* ve *C.spec*) diabetli grupta, nondiabetli gruptan daha fazla sayıda bulundu. Bu farklılık *P.micros*, *E.corrodens* ve *Capnocytophaga* türleri için istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$),($p<0.05$).

Sonuç olarak bulgularımız, diabetin periodontal hastalığın yıkıcı özelliğini arttırıcı bir risk faktörü olarak rol oynadığını ve periodontal olarak sağlıklı bireylerde periodontal patojen mikroorganizmaların miktarını arttırıcı bir etki gösterdiğini göstermektedir.

3. SUMMARY

THE COMPARISON OF THE PERIODONTAL PATHOGENIC MICROORGANISMS BY PCR IN DIABETIC AND NONDIABETIC PATIENTS WITH CHRONIC PERIODONTITIS

The aim of this study was to assess the effect of diabetes on the distribution of periodontal pathogenic microorganisms detected by PCR in diabetic and nondiabetic individuals with chronic periodontitis. 80 adults (40 males, 40 females), 38 to 70 years of age volunteered to participate in this study. Patients were divided into 4 groups as; type II diabetics with chronic periodontitis, periodontally healthy type II diabetics, nondiabetics with chronic periodontitis and periodontally healthy nondiabetics. Periodontal parameters including PI, GI, PD and CAL were recorded for each patient. Subgingival plaque samples were taken by paper points from mesial surface of the most diseased site of the diseased subjects and from mesial surface of upper first molar teeth of the healthy individuals. Samples were analysed by PCR.

The difference in the periodontal parameters and microbiological data of the patients were compared by chi-square analysis.

GI, PI, PD ve CAL values were higher in the diabetic patients with chronic periodontitis than the nondiabetics with chronic periodontitis, but the difference was not significant statistically ($p > 0.05$). The most common microorganisms in the diabetic patients with chronic periodontitis found as Gr (-) anaerobic rods (% 80 *P. intermedia*, *T. forsythensis*), Gr (+) anaerobic rods (% 80 *P. micros*) and spirocheates (% 80 *T. denticola*). When the distribution of microorganisms in chronic periodontitis investigated, it has found that *P. gingivalis*, *E. nodatum*, *F. nucleatum* and *C. rectus* were higher in nondiabetics with chronic periodontitis and this was found to be

statistically significant ($p < 0.05$, $p < 0.01$). For nondiabetic chronic periodontitis patients, all the microorganisms were higher than periodontally healthy nondiabetics, except for *A. actinomycetemcomitans*. This difference was statistically significant for *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *T. denticola*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *E. nodatum* and *P. micros* ($p < 0.001$). 7 of 11 pathogenic microorganisms (*A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythensis*, *T. denticola*, *P. micros*, *F. nucleatum*, *E. corrodens* and *Capnocytophaga* species) investigated in periodontally healthy volunteers were higher in diabetic group than nondiabetic group. The difference was statistically significant ($P < 0.001$, $P < 0.05$). In conclusion, our data proved that diabetes increased the number of periodontal pathogenic microorganisms in periodontally healthy individuals where this could be a risk factor to increase breakdown in periodontal disease.

4. GİRİŞ VE AMAÇ

Periodontal hastalıkların tüm dünyada yaygın olarak görülen bir hastalık olduğu bildirilmiştir.^{1,2} Periodontal hastalıklarda asıl etkenin mikrobiyal dental plak olduğu bilinen bir gerçektir. Günümüze kadar periodontal hastalık ile mikrobiyal dental plak arasındaki kuvvetli ilişkinin varlığını gösteren klinik, laboratuvar ve deneysel çalışmalarda *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *F. nucleatum*, *C. rectus*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *T. denticola*, *E. nodatum*, *P. micros*, *E. corrodens*, *S. sputigena* ve spiroketlerin bazıları ve *Capnocytophaga* türleri gibi mikroorganizmaların periodontal patojen olduklarına karar verilmiştir.^{1,3,4-14}

Bununla birlikte periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde lokal, sistemik, çevresel ve genetik birçok risk faktörü rol almaktadır.^{15,16}

Yapılan araştırmalar sonucunda sistemik faktörlerden birisi olan diyabetin periodontal sağlığı etkilediği ve periodontal hastalıklar için çok önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir.^{2,17-35}

Diabetes mellitus, değişmiş glukoz toleransı, lipid ve karbonhidrat metabolizmalarındaki düzensizliklerle karakterize bir hastalıktır.³⁶ Diabette hipergliseminin sonucunda komplikasyonlar gelişmektedir. Bu komplikasyonlar; aterosklerozis nedeni ile miyokard infarktüse yatkınlığı arttıran makrovasküler komplikasyonlar, retinopati, nöropati, nefropati, geciken yara iyileşmesi ve periodontal hastalıktır.³⁶

Periodontal hastalık ve diabetes mellitus karşılıklı etkileşim içindedirler. Kısaca diyebiliriz ki her ikisi de birbirleri için risk faktörü gibi vazife görmektedirler.³⁶ Yapılan pekçok araştırmada diyabetli bireylerde periodontal hastalık prevalansının arttığı tespit edilmiştir.¹⁷⁻³⁷ Bu çalışmaların çoğusunda periodontitisin diyabetin en sık görülen

komplasyonlarından birisi olduğu belirtilmiştir.^{21-27,29,33-35} Diabetli bireylerde periodontal hastalık prevalansının artması kesin olarak bir nedene dayandırılmamakla birlikte konak cevabı, kollajen metabolizması, vaskülerite, dişeti oluğu sıvısı ve subgingival mikrofloradaki değışiklikler gibi farklı mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır.^{20,37,38}

Periodontal hastalıklardan sorumlu mikrobiyal etiyolojik ajanları belirleyebilmek, tanı ve tedavisini kolaylaştırmak amacı ile birçok teknik kullanılmaktadır. ELISA, enzim testleri, DNA sondları, anaerobik kültür ve PCR bu amaçla kullanılan en yaygın tekniklerdir. Bu teknikler arasında en basit, hızlı ve türe spesifik olanının PCR olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir.³⁹⁻⁴¹

Diabet ile periodontitis arasındaki ilişkiyi araştıran literatürler incelendiğinde, periodontal patojenlerin en etkilileri olan *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythensis*, *T. denticola*, *P. micros*, *F. nucleatum*, *E. corrodens*, *E. nodatum*, *C. rectus* ve *Capnocytophaga* türlerinin tip 2 diabetli kronik periodontitisli ve nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde karşılaştırmalı olarak incelendiği detaylı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmadaki amacımız; tip 2 diabetli kronik periodontitisli ve nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde periodontal patojen mikroorganizmaların dağılımının PCR tekniği ile tespit edilmesi ve diabetin, periodontal patojen mikroorganizmaların dağılımı üzerinde etkili olup olmadığının değerlendirilmesidir.

5. GENEL BİLGİ

Periodonsiyum, dişleri çepeçevre saran ve destekleyen dişeti, sement, periodontal membran ve alveol kemiğinden ibaret bir doku ünitesi olarak tanımlanmaktadır . Bir dişin tam anlamıyla fonksiyon görebilmesi için periodonsiyumunun sağlıklı olması gerekmektedir.^{42,43}

Periodontal hastalıklarda asıl etken mikrobiyal dental plakta bulunan patojen mikroorganizmalardır.^{1,6,11,36} Mikrobiyal dental plağın yıkıcı etkisi üzerine patojen mikroorganizmaların yanı sıra genetik, çevresel ve konak faktörlerin de çok büyük etkileri vardır.^{15,16,25}

Sağlıklı şartlarda mikrobiyal dental plağın oluşturduğu etki ile konağın savunması her zaman dengededir. Mikrobiyal dental plaktaki patojen mikroorganizmaların kalitatif ve özellikle de kantitatif artış gösterdiği durumlarda bu denge mikroorganizmalar lehine bozulacak ve hastalık ortaya çıkacaktır.⁴⁴

Gingivitis ve periodontitis en sık görülen periodontal hastalıklardandır. Hastalık sadece gingival doku ile sınırlandığında gingivitis, ancak alttaki dokulara yani bağ dokusu, sement, periodontal ligament ve alveol kemiğine yayıldığında ise periodontitis adını almaktadır.^{1,2,11,25,29,44} Gerek gingivitis gerekse periodontitis farklı otörler tarafından değişen ve gelişen konseptler doğrultusunda farklı sınıflandırmalara tabi tutulmuşlardır.

Konu ile ilgili çalışmaları bu sınıflandırmalar esasında değerlendirdiğimizde, kronik periodontitisin periodontitisler içerisinde en yaygın görülen hastalık tipi olduğu tespit edilmiştir.^{1,2,11,25,29,44}

5.1. Kronik Periodontitis

Kronik periodontitis, diş destek dokularının inflamasyonu ve yıkımı ile sonuçlanan ilerleyici bir bakteriyel enfeksiyondur.²³ Klinik bulguları sıklıkla diştaşı oluşumu, supragingival ve subgingival plak birikimi, dişeti inflamasyonu, cep formasyonu, periodontal ataşman ve alveoler kemik kaybı ile karakterizedir. Dişetinde hafif veya şiddetli ödematöz yapılar mevcuttur. Dişetin rengi kırmızıdan mora doğru değişiklik göstermektedir. Dişetin yüzey yapısı değişmiş, stiplingler kaybolmuş, dişeti kenarı ödemli ve düz bir hal almış normal yapısını kaybetmiştir.^{42,43} Periodontal cep ile birlikte spontan veya sondalamada kanama, süpürasyon da kronik periodontitisin bulgularındandır. Cep derinlikleri değişkendir. Hem horizontal hem vertikal kemik kaybı görülebilmektedir. Hastalığın ilerlemiş olduğu vakalarda sıklıkla kök ve furkasyonun açığa çıkması, diş mobilitesi, dişlerin yer değiştirmesi ve diş kayıpları görülmektedir^{42,43}.

5.2. Kronik Periodontitisin Tipleri

Kronik periodontitis de kendi içinde farklı şekillerde sınıflandırılmış olmakla birlikte günümüzde en yaygın kullanılan sınıflandırmaları yerleşimine ve şiddetine göre yapılmış olanlardır.

Yerleşimine göre kronik periodontitis;

- %30 dan daha az bölge etkilenmişse, lokalize
- %30dan daha fazla bölge etkilenmişse, generalize

Şiddetine göre kronik periodontitis ise;

- klinik ataşman kaybı 1-2 mm ise, hafif periodontitis
- klinik ataşman kaybı 3-4 mm ise, orta şiddette periodontitis

- klinik ataşman kaybı 5mm ve daha fazla ise şiddetli periodontitis olarak sınıflandırılmıştır.^{1,24,42-46}

5.3. Hastalığın İlerlemesi

Kronik periodontitis, periodontitisin genellikle yavaş ilerleyen bir formudur.^{1,42,43} Kronik periodontitisin ilerleme hızı ağzın farklı bölgelerinde farklı oranlarda görülebilir. Bazı bölgelerde uzun süre pasif kalırken bazı bölgelerde hızlı bir yıkım gösterebilir.^{42,43} Periodontal hastalığın aktif olarak tespit edildiği bölgelerde; plak birikiminin fazla olduğu ve biriken plağın uzaklaştırılmasının güç olduğu rapor edilmiştir.^{42,43} Kronik periodontitis yavaş seyirli olmasına rağmen nadiren herhangi bir bölgede akut bir alevlenme ile birlikte ataşman kaybı gözlenmektedir.^{42,43} Konakçı savunma faktörlerinin etkinliği de bölgedeki hastalığın şiddetinde önemli bir rol oynamaktadır.^{1,42,43} Konak savunma mekanizmasının zayıfladığı durumlarda hastalık şiddetlenerek daha fazla kemik yıkımına ve nihayetinde diş kaybına sebep olmaktadır.^{1,5,29,42-44}

5.4. Kronik Periodontitisin Etyolojisi

Periodontal hastalıkların ve tabi ki kronik periodontitisin başlaması ve ilerlemesinde çeşitli faktörlerin rolü vardır. Bu faktörler topluca göz attığımızda;

- A. Mikrobiyal dental plak
- B. Lokal faktörler
- C. Sistemik faktörler
 - Diabet
 - Down sendromu
 - Fagositik hücrelerde defekt

- Hamilelik ve puperta
- Yaşlanma
- Beslenme
- Hormonlar
- Konağı zayıf düşüren hastalıklar
- Psikosomatik bozukluklar
- Kalıtsal

D. Konak doku cevabı

E. Anatomik şartlar

- Diş anatomisi
- Diş pozisyonu
- Gıda sıkışması
- Ağız solunumu
- Yumuşak doku ilişkileri

F. Restoratif ve prostodontik etkiler

G. Okluzal travma

H. Diğer faktörler

- Diyet
- Kalsifiye eklentiler
- Mevcut patolojik durum
- Plak kontrolünde hastanın başarısızlığı
- Sigara kullanımı

Periodontitisin oluşumunda etkili olan bu faktörlerin etkilerinin kişiden kişiye ve kişinin hayatında etkilediği zamana göre çeşitlilik gösterdiği de belirtilmiştir.¹⁷ Kesin

olan ortak kanı tüm periodontal hastalıklarda olduğu gibi kronik periodontitisde de esas etkenin mikrobiyal dental plak olduğudur.^{1,36,42,43}

5.4.1. Mikrobiyal Dental Plak

Diş yüzeylerindeki biofilmde yerleşik olarak bulunan çeşitli bakterilerin oluşturduğu yapıya mikrobiyal dental plak denmektedir.^{11,39,47}

100 yılı aşkın süredir araştırmacılar periodontal hastalığın nedenlerini araştırmakta ve özellikle de yıkıcı periodontal hastalığa neden olan mikroorganizmaları tanımlamak için bir takım mikrobiyolojik çalışmalar yaptıkları bildirilmiştir.³ 1960' lı yıllara kadar mikrobiyal dental plak formasyonunda yer alan tüm bakteri türlerinin hastalığın oluşumunda eşit derecede pay sahibi olduğu düşünülmekteydi. 1960' lı ve 1970'li yıllar boyunca teknik olanakların gelişmesine paralel bakterilerin izolasyonu, bakteriyel kültür çalışmaları, bakterilerin tanımlanması çalışmaları daha kolay ve güvenilir sonuçlar vermeye başlamıştır. Bu gelişmelerin sonucu olarak bakteri türleri yeniden sınıflandırılmış, yeni bakteri türlerinin varlığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda periodontal hastalıklı ve sağlıklı gibi farklı bölgelerde tedavi öncesi ve sonrası gibi farklı durumlarda mikroorganizma analizleri yapılmış ve periodontal hastalıklı ceplerde 500 kadar farklı bakteriyel türün bulunduğu rapor edilmiştir.^{3,11,39,40,47-51} Yine bu çalışmaların sonucunda bazı mikroorganizmaların bazen tek başına bazen de kombinasyonlar halinde etki ederek periodontal hastalığa neden olduğu bulunmuştur.^{3,7,11,34,35,39,49-51} Bu periodontal patojenlerin çeşitli komplekslerinin, kolay etkilenen bir konakta hastalığı başlatabildiği ve devam ettirebildiği vurgulanmış olup, hastalığa neden olan patojenin hastalık yapıcı özellikleri virülans faktörler olarak adlandırılmıştır.^{1,7} Virülans terimi ilk olarak 1924 yılında Kolmer tarafından mikroorganizmanın toksisite ve saldırganlık özelliği ile yatkın bir konağı etkilemesi

olarak tanımlanmıştır.⁴⁹ Stewart ise bakteriyel virölansı metabolizmanın son ürünlerinden mikroorganizmaların özel toksinler üretmesi ve doku yıkımı oluşturması olarak tanımlamıştır.⁴⁹ Socransky de yaptığı bir çalışmada virölans faktörlerinin özelliklerini belirtmiştir. Socransky'e göre mikroorganizmalarda bulunan virölans faktörleri mikroorganizma konak etkileşimine neden olabilmeli, konağa saldırabilmeli, konağın hücreleri içinde büyüebilmeli ve konak defansına müdahale edebilmelidir.⁴⁹

Yapılan araştırmalarda periodontal hastalığa neden olan patojen mikroorganizmaların çoğunun Gram (-) anaerobik çubuk, Gram (-) fakültatif çubuk ve Gram (+) fakültatif ve anaerobik kok ve çubuklar olduğu bildirilmiştir.^{5,11,39,47} Socransky ise plakta bulunan ve günümüze kadar farklı çalışmalarda tespit edilen mikroorganizmaları yapısal özelliklerine göre (Gram (-), Gram (+); fakültatif anaerob, zorunlu anaerob; kok, çubuk, spiroket ve mikoplazmalar gibi) bir sınıflandırmayı sunmuştur.⁵²

	Gram  pozitif		Gram  negatif	
	fakültatif anaerob	zorunlu anaerob	fakültatif anaerob	zorunlu anaerob
Prokaryot				
Koklar 	Streptococcus – <i>S. anginosus</i> (<i>S. milleri</i>) – <i>S. mutans</i> – <i>S. sanguis</i> • Ss – <i>S. oralis</i> – <i>S. mitis</i> – <i>S. intermedius</i>	Peptostreptococcus – <i>P. micros</i> • Pm Peptococcus	Neisseria Branhamella	Veillonella – <i>V. parvula</i>
Çubuk 	Actinomyces – <i>A. naeslundii</i> • An – <i>A. viscosus</i> • Av – <i>A. odontolyticus</i> – <i>A. israelii</i> Propionibacterium – <i>R. dentocariosa</i> Rothia – <i>R. dentocariosa</i> Lactobacillus – <i>L. oris</i> – <i>L. acidophilus</i> – <i>L. salivarius</i> – <i>L. buccalis</i>	Eubacterium – <i>E. nodatum</i> • En – <i>E. saburreum</i> – <i>E. timidum</i> – <i>E. brachy</i> – <i>E. alactolyticum</i> Bifidobacterium – <i>B. dentium</i>	Actinobacillus – <i>A. actinomycetemcomitans</i> • Aa Capnocytophaga – <i>C. ochracea</i> – <i>C. gingivalis</i> – <i>C. sputigena</i> Campylobacter – <i>C. rectus</i> • Cr – <i>C. curvus</i> – <i>C. showae</i> Eikenella – <i>E. corrodens</i> • Ec Haemophilus – <i>H. aphrophilus</i> – <i>H. segnis</i>	Porphyromonas – <i>P. gingivalis</i> • Pg – <i>P. endodontalis</i> Prevotella – <i>P. intermedia</i> • Pi – <i>P. nigrescens</i> – <i>P. melaninogenica</i> – <i>P. denticola</i> – <i>P. loeschii</i> – <i>P. oris</i> – <i>P. oralis</i> Bacteroides – <i>T. forsyth.</i> • Tf – <i>B. gracilis</i> Fusobacterium – <i>F. nucleatum</i> • Fn – <i>F. periodonticum</i> Selenomonas – <i>S. sputigena</i> – <i>S. noxia</i>
Spiroketler ve Mikoplazmalar 	Mycoplasma – <i>M. orale</i> – <i>M. salivarium</i> – <i>M. hominis</i>		ANUG'in Spiroket yapısı Treponema sp. – <i>T. denticola</i> • Td – <i>T. socranskii</i> – <i>T. pectinovorum</i> – <i>T. vincentii</i>	
Ökaryot	Candida – <i>C. albicans</i>			Entamoeba Trichomonas

Şekil 1. Plak biyofilm ve yapışık olarak izlenmeyen plak yapısında mikroorganizmalar⁵²

Yine Socransky 1994 yılında yaptığı başka bir çalışmasında belli kurallara göre çeşitli mikroorganizmaların patojenitesini inceleyen ve belirten araştırmaları bir değerlendirmeye tabi tutmuş ve bu bakterilerin patojenite sıralamasını çok kuvvetli, kuvvetli ve orta derecede olmak üzere 3 kategoride ele almıştır.⁵² Resim 2

Nitekim uzun yıllar süren çalışmalar sonucunda *A.actinomycetemcomitans*, *P.gingivalis*, *T.forsythensis*'in periodontal hastalık ile kuvvetli ilişkisi olduğu

bildirilmiştir. ^{14,53} 1996 Periodontoloji Workshop’unda da bu türlerin periodontal patojen olduklarına kesin olarak karar verilmiş, ilave olarak *F.nucleatum*, *C.rectus*, *P.intermedia*, *P.nigrescens*, *E.nodatum*, *P.micros*, *S.sputigena* ve spiroketlerin bazıları gibi diğer türlerin de periodontal hastalığa neden olduğu bildirilmiştir. ^{1,3-7}

Tür	Çalışmalar	① İlişki	② Eliminasyon	③ Konak cevabı	④ Virulans faktörleri	⑤ Hayvan çalışmaları
Aa	<i>Actinobacillus actinomycetem-comitans</i>	+++	+++	+++	+++	+++
Pg	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+++	+++	+++	+++	+++
Pi	<i>Prevotella intermedia</i>	+++	++	++	+++	+++
Fn	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	+++	+	+++	++	+
Tf	<i>Tannerella forsythensis*</i>	+++	++	+	+++	+
Cr	<i>Campylobacter rectus</i>	+++	++			
Ec	<i>Eikenella corrodens</i>	+++	+		+	++
Pm	<i>Pepto strepto-coccus micros</i>	+++	+	+		
Ss	<i>Selenomonas sputigena</i>	+++				
	<i>Eubacterium sp.</i>	++		++		
	Spiroketler	+++	+++	+++	+++	+

Periodontitis ile ilişki

+++ Çok kuvvetli
 ++ Kuvvetli
 + Orta
 Araştırma yok

+++ Çok kuvvetli	++ Kuvvetli	+ Orta
- Aa <i>Actinobacillus actinomycetem-comitans</i> - Pg <i>Porphyromonas gingivalis</i> - Tf <i>Tannerella forsythensis</i> - Td <i>Treponema denticola</i> (Anug lezyonunun spiroketleri)	P. intermedia C. rectus E. nodatum - Treponema sp.	S. intermedius P. nigrescens P. micros F. nucleatum - Eubacterium sp. E. corrodens

Şekil 2. Periodontal patojenlerin sıralaması

Actinobacillus Actinomycetemcomitans

A. actinomycetemcomitans küçük, hareketsiz, Gram (-), fakültatif anaerob, sakkarolitik, kapnofilik, yuvarlak sonlanmış bir basildir. A. actinomycetemcomitans taze izolatlarında fimbrialara sahip ve R tipi koloni oluştururken, laboratuvar subkültürlerinde fimbrialarını kaybederek S tipi koloni oluştururlar.^{5,7,54}

Endotoksin, lökotoxin, fimbria, kollejenaz, fibroblast inhibe eden faktör ve proteolitik enzimler A.actinomycetemcomitans'nın virülans faktörleridir.⁷

A. actinomycetemcomitans'ın LJP lezyonları, periodontitis ve gingivitis durumunda plak örneklerindeki sayılarının sağlıklı bireylerdeki sayılarına kıyasla artmış olmalarından dolayı bu bakteri olası periodontal patojen olarak tanımlanmıştır. A. actinomycetemcomitans juvenil periodontitis, Papillon Lefevre sendromu, hızlı ilerleyen yıkımla karakterize yetişkin periodontitisin temel patojenlerinden biridir.^{4,5,7,54}

Porphyromonas Gingivalis

Prevotella gibi Flavobacter-Bacteroides grubu içerisinde yer alan porphyromonas cinsi Gram (-), anaerobik, hareketsiz, asakkarolitik basillerdir . Kapsül, endotoksin, fimbria ve kollejenaz gibi çeşitli virülans faktörleri bulunmaktadır.^{5,7,54}

Primer olarak insan subgingival bölgesinde bulunan P. gingivalis, periodontal enfeksiyonlarla ilişkili siyah pigmentli anaerobik basil türlerinin en bilinenidir. İnsanlarda ve deney hayvanlarında periodontal yıkım ile karakterize agresif bir periodontal patojendir.^{5,7,54}

P. gingivalisle ilgili çalışmalarda, sağlıklı durumda veya gingivitiste sıklıkla rastlanmayan ve sayıca az olan bu tür, yıkımla karakterize periodontal hastalıkta oldukça yüksek sayıda belirlenmiştir.^{5,7,54}

Tannerella Forsythisis

İlk kez fuziform Bacteroides olarak 1979 yılında tanımlanan *T. forsythisis* dental implant çevresinden, endodontik lezyonlardan ve periodontal ceplerden izole edilmektedir.⁵⁴ Gram (-), anaerob, fuziform şekilli bir mikroorganizmadır.⁵⁴ Virülans faktörleri kapsül, endotoksin, tripsin benzeri proteinaz, apoptozisi indükleyen faktör ve betalaktam enzimidir.^{7,54}

Zorunlu anaerob olan *T. forsythisis*, yavaş ürer ve primer izolasyondan sonra az sayıda koloni geliştirmek için 7-14 gün gerekir. Gmür ve arkadaşları, subgingival plak örneklerinde monoklonal antikorları kullanarak *T. forsythisis*'i direkt olarak belirlemiş ve daha önceki kültür çalışmalarında bulunandan daha sık olduğunu ve aynı zamanda artan cep derinliği ile sıkı ilişkisini ortaya koymuşlardır.^{5,7,54}

Treponema denticola

Treponema'lar sıkı, regüler veya irregüler spiralleri olan, Gram (-), hareketli helikal basillerdir. *Treponema* türleri zorunlu anaerobiktir ve primer izolasyonda üremeleri birkaç haftayı bulur. Flagellum, endotoksin, proteinaz enzimleri, major kılıf proteinleri *T. denticola*'nın virülans faktörleridir.⁷

T. denticola'nın insan oral kavitesinde lokalize olduğu ve ilerlemiş periodontal lezyonlarla ilişkisinin bulunduğu bildirilmiştir.⁷ *T. denticola*, periodontal hastalıklı bölgelerde sağlıklı bölgelere, subgingival plakta supragingival plağa oranla daha fazla bulunmuştur.⁷

Prevotella Intermedia

Flavobacter-Bacteroides grubunda yer alan *Prevotella* cinsi, bazı siyah pigmentli ve pigmentsiz türleri kapsar. Hareketsiz, Gram (-), sakkarolitik, değişik uzunluklarda, ince, kokoid basil morfolojisinde, fermentatif anaerob bakterilerdir.^{7,54} Kapsüllü

yapıları, kompleman ve immünoglobülinleri parçalayıcı ve diğer doku hasarı ile ilişkili enzimlere sahip olmaları bu bakterinin virülansını arttıran faktörlerdir.^{7,54}

Campylobacter rectus

C. rectus Gram (-), fakültatif anaerobik, kısa, hareketli bir mikroorganizmadır.⁷ Hücreleri düz, vibrio benzeri veya sarmal olabilir. Birçok tür, polar tek bir flagellumu ile hareketlidir fakat flagellaları olmayan bazı türleri sadece seğirme hareketi yaparlar.⁷ Mikroaerofiliktirler. İnsan oral *Campylobacter* türleri H₂S üretirler, asakkarolitiktirler, birçok rutin biyokimyasal testleri negatiftir.⁵⁴ Endotoksin ve lökotoxin üretirler.⁷

C. rectus için primer ekolojik uygun yer periodontal ceplerdir.⁵⁴ Sayılarının hastalıklı bölgelerde sağlıklı bölgelerden fazla olduğu bulunmuştur. Aktif periodontal yıkımın olduğu bölgelerde yüksek miktarda ve daha sık olarak bulunmuştur.⁵⁴

Eubacterium nodatum

Bu mikroorganizma son zamanlarda orta şiddetli ve şiddetli adult periodontitis vakalarının subgingival bölgelerinden izole edilen yeni bir tür olarak açıklanmıştır. Anaerobik, asakkarolitik, hareketsiz, Gram (+) mikroorganizmalardır.^{55,56}

Peptostreptococcus micros

Peptostreptococcus türleri, Gram (+), anaerobik, küçük, asakkarolitik koklardır ve ikiyeşerli zincir şeklinde, tetratlar ve düzensiz kümeler halinde küresel hücre morfolojisi gösterirler.⁵⁴ Katalaz üretmezler ve başlıca metabolik ürünleri laktik asitlerdir. Kapsül yapısı ve hyaluronidaz enzimi virülans faktörlerini oluşturmaktadır.⁵⁴ İnsan ve hayvanların normal kommensal florasının elemanları olan bu türün bazıları, periodontitis de dahil, oral kavite ve vücudun diğer bölgelerindeki karışık enfeksiyonlarla ilişkilidir.⁵⁴

P. micros, sıklıkla insan subgingival plağından izole edilmiş ve buranın majör yerleşim yeri olduğu ileri sürülmüştür. *P. micros*'un uzun süreli çalışmalarda periodontal hastalıklarla ilişkisi ortaya çıkmış, gingivitisli veya sağlıklı durumlara kıyasla periodontal yıkımlı alanlarda daha sıkça ve yüksek sayılarda belirlenmiş ve özellikle aktif alanlarda sayıları artmıştır.⁵⁴ Bu türün izlenmesiyle, başarılı olarak tedavi edilmiş periodontal alanlarda miktarının ve sıklığının azalmış olduğu görülmüştür.⁵⁴

Fusobacterium nucleatum

Fusobacterium türleri hareketsiz, hücreleri genellikle sivri sonlanmış çubuk şeklinde fuziform morfoloji gösteren, Gram (-), anaerobik, nonfermentatif ve zayıf olarak fermentatif mikroorganizmalardır.^{7,54} *Fusobacterium nucleatum*'un virülans faktörleri fimbria, endotoksin, proteinaz ve fosfolipaz C enzimidir.⁷

F. nucleatum'un subgingival mikrobiyanın bir parçası olduğu uzun yıllardır bilinmektedir.⁵⁴ *Fusobacterium* türleri oral kavitede kolonize olurlar ve ekstraoral enfeksiyonlarda da rol oynarlar.⁵⁴

Eikenella corrodens

Gram (-), kapnofilik, asakkarolitik, düzgün künt sonlu küçük basil morfolojisinde, fakültatif anaerob, bazı suşları ise aerob olan bir bakteridir. Enerji kaynağı olarak aminoasitleri kullanır ve oksidaz, lizin ve ornitindekarboksilaz pozitifdir. Klindamisin, tetrasiklin ve metronidazole dirençlidir.⁵⁴

E. corrodens, insan oral kavitesinde ve barsaklarında kolonize olur.⁵⁴ Sağlıklı bölgelerden çok periodontal yıkımın olduğu alanlarda, aktif bölgelerde ve periodontal tedaviye zayıf cevap veren hastalarda daha sık ve yüksek sayıdadır.^{7,54}

Capnocytophaga Türleri

Sporsuz, kapsülsüz, fakültatif anaerob, hareketli, Gram(-) kokobasillerdir.^{57,58} Üremeleri için CO₂'e ihtiyaç duyarlar. Kayma hareketi yaparlar. Oral florada bulunmaktadır.^{57,58}

Capnocytophaga türleri kollajenaz, komplemanı aktivite eden ve Ig'leri yıkan enzimler üretmektedirler. Bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda, özellikle ağız lezyonları olan granülositopenik hastalarda bakteriyemi ve şiddetli hastalıklara sebep olmaktadır.⁵⁹

Bireyin periodontal durumunun değerlendirilmesine detaylı bir dental ve medikal anamnez alınması ile başlanmalıdır. Dental tedavinin başarısında sistemik rahatsızlıkların önemi tartışılmazdır. Periodontal sağlığı olumsuz yönde etkileyen sistemik rahatsızlıkların en başında ise Diabetes Mellitus gelmektedir.⁴⁷

5.5. Diabetes Mellitus

Diabet, glukozu kullanan vücut hücrelerindeki yetersizlikle karakterize olan ve en sık görülen endokrin hastalıktır. Bu hastalığın en büyük özelliği insülin üretiminin azlığı, insülin disfonksiyonu veya iskelet kaslar ve karaciğer gibi hedef organlardaki insülin reseptör duyarlılıklarının eksikliği veya disfonksiyonu nedeniyle sonuçlanan artmış kan glukoz seviyesidir.^{2,17,22,23,27,30,32,46,60-65}

Diabet iki nedenden dolayı güncel sağlıkta önceliklidir. Birincisi, popülasyonun yaşı birçok insanı hastalığa sürükleyecektir ki bu da hastalıklı vakaların tahminen % 25 artacağını göstermektedir. İkinci olarak popülasyonun yaşı göz önüne alınmaksızın hastalık prevalansının 1998'de % 4.1 olan değerinin 2006'da % 5.7 olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak yakın gelecekte diabetli insan sayısında gerçek bir artış beklenmektedir.^{17,62-65}

5.5.1. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırması

1999 yılında Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA) tarafından DM tanısı ve sınıflandırılması konusu yeniden gözden geçirilmiş ve alınan kararlar sonucunda diabet;

a. Tip 1 diabet

b. Tip 2 diabet

c. Gestasyonel diabet

d. Diğer özgün diabet tipleri (sekonder diabet) olarak sınıflandırılmıştır ⁶²⁻⁶⁵.

a. Tip 1 Diabet : DM olgularının yaklaşık % 10 kadarı bu sınıfta yer almaktadır.

Erken yaşlarda genellikle poliüri, polidipsi, polifaji ve hızlı kilo kaybı gibi semptomlarla aniden başlamaktadır. Pankreasın Langerhans adacıklarındaki β hücrelerinin kaybı nedeni ile insulinoopeni görülen bu olgular, ketoasidozdan korunmak ve yaşamlarını sürdürmek için ekzojen insüline bağımlıdırlar. Tip 1 DM başlıca pankreasın β hücrelerinin otoimmün hasarı nedeniyle ortaya çıktığı için çoğu hastada otoimmün olayı gösteren antikorlar prelinik dönemde de bulunmaktadır. Otoimmünite kanıtı bulunmayan bazı hastalar ise tip 1 idiyopatik grubu olarak sınıflandırılmaktadır. İnsidans çocukluk ve gençlik döneminde yüksektir. Olguların % 75 kadarında 30 yaşın altında başlayan hastalık, geri kalan grupta herhangi bir yaşta başlayabilmektedir.

2,23,32,62-66

b. Tip 2 Diabet: En yüksek prevalansa sahip olan bu grup, diyabet olgularının yaklaşık % 90 kadarını kapsamaktadır. Çok az semptomlu veya asemptomatik olan hastalar ketoasidoza eğilimli olmadıklarından insüline bağımlılıkları yoktur. İnsülin düzeyinin azalmış, normal veya artmış olabildiği tip 2 diabetik hastaların çoğunda glukozu insülin yanıtı bozulmakta veya periferde reseptör düzeyinde insülin direnci

bulunmaktadır. Sıklıkla obezitenin eşlik ettiği bu olgularda kilo kaybı tek başına hiperglisemiye genellikle düzeltebilmektedir. Hipergliseminin kontrolü için çoğu tip 2 diabet hastasında diyetlerinin düzenlenmesine, oral hipoglisemik ilaçlara veya insüline gereksinim duyulmaktadır. Çoğu olguda 40 yaşından sonra başlayan hastalık bazen genç yaşlarda da görülebilmektedir.^{2,23,32,62-66}

b.1 Tip 2 DM patogenezi. Tip 2 diyabetli hastalarda en az iki önemli patoloji bulunmaktadır. İnsülinin periferik dokulardaki aktivitesinin azaldığı ve insülin direnci adı verilen ilk patolojide çoğunlukla altta yatan primer bir neden olduğu kabul edilmektedir. İnsülin direncinin kompanse edilmesi için pankreasın yeterli insülin salgılayamadığı ikinci patolojiye β hücresi disfonksiyonu adı verilmektedir. Hastalığın erken döneminde göreceli, geç döneminde ise tam bir insülin yetmezliği görülmektedir. Tip 2 diyabet patogenezinin β hücresi salgılama kusurunun veya insüline periferik direncin sorumlu olduğu veya her ikisinin birlikte etkili olduğu yıllardır tartışılmaktadır. İnsülin direncinin primer neden olduğunu destekleyen çok sayıda veri bulunmasına rağmen heterojen bir hastalık olan tip 2 diyabette normal glukoz toleransından diyabete geçişin tek bir nedenle açıklanması zor olmaktadır.⁶²⁻⁶⁵

Diyet ve egzersiz gibi çevresel faktörler tip 2 diyabet patogenezinde önemli belirleyicilerdir. Tip 2 diyabet ile obezite prevalansı pozitif korelasyon göstermektedir. Tip 2 DM aile öyküsü (genetik yatkınlık), obezitenin süresi ve yağın vücuttaki dağılımı gibi faktörler oldukça önemlidir. Karbonhidrat toleransı normal olan obezler de dahil olmak üzere hiperinsülinemi ve insülin direnci gözlenen obezlerde diyabet gelişme sıklığı %15 kadardır.⁶²⁻⁶⁵

Tip 2 DM prevalansı ile fiziksel aktivite arasında ters bir ilişki bulunmaktadır. Günlük enerji harcamasının 500 kcal artması ile tip 2 DM riski %6 azalmaktadır. Bu

etki vücut ağırlığı ile ailesel DM öyküsünden bağımsızdır. Egzersiz iskelet kası ve yağ dokusunda insüline duyarlılığı artırmaktadır.⁶²⁻⁶⁵

İnsülin direnci ile uyarılan artmış β -hücre aktivitesi gereksinimi, β hücre fonksiyonunun progresif kaybına ve açlık hiperglisemisi gelişimine yol açmaktadır. Açlık hiperglisemisinde temel patoloji seçici glukoz yanıtsızlığı adı verilen glukozla uyarılan insülin salınımındaki kayıptır. Hiperglisemi nedeniyle β hücrelerinin glukozla yanıtsız hale gelmesine glukotoksisite adı verilmektedir. Glukotoksisitede β hücresi disfonksiyonunun derecesi, glukoz konsantrasyonu ve hipergliseminin süresi ile ilişkilidir. Normal kan glukoz düzeyinin yeniden sağlanması bu kusuru hızla gidermektedir.⁶²⁻⁶⁵

b.2 Tip 2 diabet oluşumu (Diabetogenezi). Tip 2 diabetin gelişiminde genetik faktörlerin katkısı bilinmektedir. İdantik ikizlerde tip 2 diabet için uyum oranı %100 civarındadır. Tip 2 diabetin anne ve babası diabetik olan obezlerde görülme olasılığı, ailesinde diyabet öyküsü bulunmayan obezlere göre 10 kat fazladır.⁶²⁻⁶⁵

DM, şizofreni, ateroskleroz, hipertansiyon ve osteoporoz gibi sık rastlanan, Mendel kurallarına göre kalıtılmayan ve genetik olarak daha kompleks olan hastalıkların fenotiplerinin oluşmasında ise birden çok genetik faktör ile çevresel faktörler birlikte rol oynamaktadır.⁶⁴

Çok sayıda faktör tip 2 diabetle diabetogenezin araştırılmasını karmaşık hale getirmektedir. Genetik araştırmalarda tip 2 DM ile ilişkili birçok gen bulunmasına rağmen bugüne kadar yalnızca % 5 civarındaki hastanın genetik kusuru kesin olarak belirlenmiştir. Sık görülen tip 2 DM tiplerine yol açan gen veya genler hala bilinmemektedir. Bilinen genler arasında insülin sekresyonu, insülin aktivitesi ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alanlar bulunmaktadır.⁶²⁻⁶⁴

c. Gestasyonel Diabet: Gebelikle başlayan veya ilk kez gebelik sırasında tanı alan karbonhidrat intoleransıdır (diabetik gebe kadınlar bu sınıflamanın dışındadır). Gebelik sırasında anormal glukoz toleransının sıklığı % 1-20 arasında (sıklıkla % 3-5) değişmektedir. GDM görülen kadınlarda daha sonra diyabet gelişimi riski artmıştır.⁶²⁻⁶⁵

Normal bir gebeliğin özellikle 2. trimestrının sonları ve 3. trimestrında artan insülin direncinin dengelenmesi için insülin salgılanması artırılmakta ve normal glukoz homeostazı korunmaya çalışılmaktadır. İnsülin düzeyinin yeterli oranda artırılamadığı kadınlarda GDM gelişmektedir.⁶²⁻⁶⁵

d. Diğer özgün diabet tipleri (Sekonder Diabet): Az rastlanan bu alt grupta β hücre fonksiyonundaki ve insülin etkisindeki genetik defektler, ekzokrin pankreas hastalıkları, akromegali, Cushing hastalığı ve glukagonoma gibi endokrinopatiler, β hücre fonksiyonunu bozan ilaç ve hormonlar (dilatant, pentamidin), insülin etkisini bozan ilaçlar (glukokortikoidler, tiazidler, 13 adrenerjikler), enfeksiyonlar, immün aracılı diyabetin az rastlanan formları ile Down, Klinefelter ve porfiria gibi genetik sendromlara bağlı olarak hiperglisemi görülmektedir.⁶²⁻⁶⁵

5.5.2. Diabetes Mellitus'un tanısı

DM tanısında ilk olarak hiperglisemi ile karakterize diğer nedenlerin (akromegali, Cushing sendromu, glukagonoma, feokromasitoma) ayırıcı tanısına gidilmelidir. Tüm bu hiperglisemi sebepleri dışlandıktan sonra da tip 1 ve tip 2 diyabet ayırımı yapılmalıdır. Klasik diabet semptomları ile birlikte;

- rastgele ölçülen plazma glukoz konsantrasyonunun $\geq 200\text{mg/dl}$ ($11,1\text{ mmol/L}$)
- iki ayrı zamanda ölçülen açlık plazma glukozunun $\geq 126\text{mg/dl}$ ($7,0\text{ mmol/L}$)

- OGGT sonrası 2.saat plazma glukozunun ≥ 200 mg/dl(11,1 mmol/l) olması diabet tanısına götürür.^{28,62-65}

Diabet taramalarında açlık ve tokluk plazma glukoz değerleri normal ile diabet değerleri arasında ise diabet tanısını kesinleştirmek amacıyla OGTT testi uygulanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından tanımlanan OGTT testinde, 75 gram susuz glukoz 300 ml suda çözülerek uygulanmalıdır. OGTT testi sırasında insulin, C-peptid ve glukoz düzeylerinin birlikte değerlendirmesi için eş zamanlı kan örnekleri alınmalıdır. WHO kriterlerine göre 2.saatteki plazma glukoz konsantrasyonunun ≥ 200 mg/dl, Amerikan Ulusal Diyabet Veri Grubu kriterlerine göre ise 0. ile 2. saat arasındaki (30.,60.,90. dakika ölçümleri) en az bir değer ≥ 200 mg/dl bulunması durumunda diabet tanısı konmaktadır.^{28,62-65}

Açlık plazma glukoz düzeyleri ≥ 110 mg/dl - < 126 mg/dl olan kişiler bozulmuş açlık glukozu tanısı almaktadır. Bu kişiler periodik olarak izlenmeli ve ek testler yapılmalıdır.^{28,62-65}

Birinci dereceden diabetik akrabaları bulunanlar, 45 yaş ve üstündekiler, obezler, yüksek riskli etnik grupta yer alanlar, yüksek doğum ağırlıklı çocuk sahibi olmuş kadınlar, gestasyonel diyabeti olan kadınlar ile hipertansiyonu, anormal lipit düzeyleri, rekürrent cilt, genital, üriner traktus enfeksiyonları ve önceden bozuk glukoz toleransı bulunan kişilere asemptomatik olsalar bile OGTT testi uygulanmalıdır.^{28,62-65}

5.5.3. Diabetin Komplikasyonları

Diabetin genel semptom ve işaretlerinin hepsi hipergliseminin direkt sonuçlarıdır. Bu komplikasyonlar uzun süreli hiperglisemi sonucunda oluşmaktadırlar.

Diabetin genel komplikasyonları retinopati, nöropati, nefropati, makrovasküler komplikasyonlar ve değişen yara iyileşmesidir.^{2,67}

Diabette görülen oral komplikasyonlar ise xerostomia, oral dokularda travmaya artan yatkınlık, candida gibi enfeksiyonlara yatkınlık, plak birikiminde ve çürük riskinde artış, periodontal hastalıklara yatkınlık, geciken yara iyileşmesi, oral parestezi ve tat alma duyusunda değişikliktir.^{31,32,38,68}

5.6. Periodontitis Diabet İlişkisi

Birçok çalışma diabetle periodontitis arasında anlamlı bir ilişki olduğunu rapor etmiştir. Genel olarak şu kanıya varılmıştır ki diabetli bireyler periodontitis için büyük risk taşımaktadırlar.^{2,17-35,38,67} Keza birçok araştırmacı tarafından da periodontitis diabetin 6. komplikasyonu olarak tanımlanmıştır.^{17,19,21,22,25-27,31,33-35,69}

Bununla birlikte diabetli hastalarda periodontal hastalığın şiddetinde ve prevalansında artış olması, günümüzde de araştırmacılarda merak konusudur. Ayrıca periodontal hastalığın glisemik kontrolü nasıl modifiye ettiği ve periodontal tedavinin glisemik kontrolü iyileştirip iyileştiremeyeceği konuları üzerine çalışılmaktadır.²²

Zayıf oral hijyenli diabetli hastalarda gingival enflamasyon, derin periodontal cepler, hızlı kemik kaybı, sık periodontal apseler görüldüğü bildirilmiştir.^{2,17-19,22,23,26,28,30-32,45}

Diabetli bireyin gingivasında mikroskobik olarak bazal membran kalınlaşmış, kapiller lümen darlaşmış, oksijen tüketimi ve glukoz oksidasyonu azalmıştır. Gingival dokunun devamı için gerekli besin transportu bu kapiller damar duvarındaki değişiklikten dolayı engellenmektedir.^{17,18,61,70}

Birçok çalışma periodontal hastalık ve diyabet arasında ilişki olduğunu desteklemektedir. Veriler diyabetlilerde periodontal hastalığın daha ciddi ve prevalansının sık olduğunu göstermektedir.^{2,17-35,38,67}

5.6.1. Tip 2 Diabette Periodontal Durum

Tip 2 diyabetlilerde periodontal hastalıkla ilgili çalışmaların çoğu Arizona'daki Pima yerlileri ile yapılmıştır. 35 yaşın üstündeki bireylerden % 50'si tip 2 diyabet olan bu toplum dünyada tip 2 diyabet prevalansı en fazla olan popülasyondur. Emrich ve arkadaşlarının 1342 Pima yerlisi üzerine yaptığı çalışmada 55 yaş altı bütün yaş gruplarında periodontitis prevalansının büyük olduğunu bulmuştur. Emrich tarafından diyabetlilerin 3 kat daha fazla periodontitis gelişimine yatkın oldukları bulunmuştur. Ancak bu çalışma diyabetiklerin metabolik kontrolünün ne aşamada olduğuna dair bilgi vermemiştir. Taylor ve arkadaşları da bu grupta yaptıkları bir çalışmada metabolik kontrolü iyi olmayanlarda periodontal hastalık prevalansının ve periodontal yıkımın daha fazla ve ciddi olduğunu bildirmişlerdir.^{17,19}

Diyabetin süresinin uzun olması ve retinopatinin bulunması da periodontal hastalık gelişme riskini arttırmaktadır^{17,19}. Tip 2 diyabetli Meksikalılarda yapılan bir çalışmada da diyabet tanısı alındıktan sonra geçen sürenin periodontal hastalığın şiddeti üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir.¹⁹

Periodontal hastalık insidansının diyabetli olmayan bireylerle karşılaştırıldığında diyabetli olanlarda daha fazla olduğu gösterilmiştir.^{18,19,71} Taylor ve arkadaşları 2 yıllık bir çalışmada diyabetli bireylerde alveoler kemik kaybının diyabetli olmayanlardan daha fazla olduğunu bulmuşlardır.^{19,72} Bu bulguların diyabetli bireylerde periodontal hastalığın daha hızlı ilerlediğini gösteren bir parametre olabileceği vurgulanmıştır.¹⁹

Neticede bütün sistemik hastalıklar gibi diabet de konak defans sistemini etkileyerek periodontitis için risk faktörü olarak etki etmektedir. Olumsuz etkilenmiş konak cevabın diabetlilerdeki periodontitisin şiddeti ve artan insidansı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.^{19,21,22,26,27}

5.7. Diabet Nedeniyle Değişen Konak Mekanizmaları

5.7.1. Vasküler Anormallikler

Diabetlilerde periodontal hastalık patogenezi ile ilgili yapılan erken dönemdeki çalışmalarda bazal membran kalınlaşması ve vaskülarizasyondaki değişiklikler üzerine odaklanılmıştır.¹⁹ Bu çalışmalarda dejeneratif vasküler değişikliklerin diabetli bireylerde bazı organ ve dokularda görüldüğü gibi gingival dokularda da gözlendiği belirtilmiştir. Vasküler değişiklikler besinlerin dağıtımını ve gingival dokulara lökosit migrasyonunu engellemekte, metabolik artıkların eliminasyonunda ve oksijen difüzyonunda azalma meydana gelmesine ve yara iyileşme kapasitesinin azalması ile periodontitisin şiddetinin artmasına neden olmaktadır.^{19,70}

5.7.2. Nonenzimatik Glikolizasyon

Diabetteki hipergliseminin bir sonucu da proteinlerin sirkülasyonu ve immobilizasyonundaki(yerinde kalma) değişikliklerdir. Kollajen gibi proteinler, lipidler, aldoz şekerlerine dönüştüklerinde, nonenzimatik glikasyon ve oksidasyona uğramaktadırlar.¹⁹ Başlangıçta şekere maruz kalan proteinlerde reversible değişiklikler görülür ve sonuç olarak AGEs olarak da bilinen ileri glikasyon ürünleri olan kompleks moleküller oluşur.^{19,36,46,68,70}

Glukoz kaynaklı oluşan çapraz bağlar diabetli bireylerde kollagen çözünürlüğünün ve turnover oranının azalmasına katkıda bulunmaktadır.¹⁹ Diabetli

bireylerde gingival kollajenin azalmış çözünürlüğü insülin tedavisi ile normale yakın değerlere dönüşebilir ¹⁹. Yara kenarlarında var olan kollajenin glikolizasyonu sonucunda çözünürlükte azalma ve yara bölgesinde geciken bir remodeling oluşur.¹⁹ Diabetli bireylerin gingival dokularında yüksek seviyelerde AGEs bulunması artmış doku yaralanmasının potansiyel mekanizması olan artmış oksidatif stresle bağlantılı olabilmektedir.^{19,68,70}

AGEs hedef hücrelere hücre yüzey polipeptit reseptörlerinin tanınması ile etki eder. AGEs için en iyi bağlanma yerleri immunoglobulin superfamilyasından olan AGE için reseptör veya RAGE diye adlandırılan moleküllerdir.^{19,22,36,46,70} AGEs hücreler üzerindeki RAGE'ler ile etkileşimdedir, makrofajlar gibi, enzimlerin, adhezyon moleküllerinin, sitokinlerin, ve diğer medyatörlerin üretimini stimüle ederler.^{19,22,36,46,68,70} Bu medyatörler zayıf kontrollü diabetli bireylerin DOS'larında bulunmaktadır. Ligand-reseptör etkileşimlerine karşılık olarak bu ürünlerin fazla üretilmesi kollajen metabolizmasında değişikliklere neden olabilmektedir. AGE modifiye proteinler insan monositleri için kemotaktiktirler.^{19,22,46,70} Bu inflamatuvar cevabı büyütebilir, yara tamiri gecikir, bağ dokusu hasarına ve kemik rezorbsiyonuna neden olur.^{19,22,36,46,68,70,73}

5.7.3. Lipit Metabolizmasındaki Dengesizlikler

Diabetin komplikasyonları öncelikle hiperglisemi nedeniyle oluşmasına rağmen lipit metabolizmasındaki dengesizlikler de bunlara neden olabilir. Lipit metabolizmasındaki dengesizlikler düşük dansiteli lipoproteinlerin, trigliseritlerin ve yağ asitlerinin serum seviyelerinin artması ile karakterizedir. Birçok araştırmacı makrofaj ve/veya monositlerin fonksiyon bozuklukları ile lipit metabolizmasındaki modifikasyonlar arasında korelasyon bulmuştur.^{19,74}

Birçok çalışma, hipertrigliserideminin monositler tarafından proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α ve IL-1 β) üretimini artırılmasına katkısı olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca nötrofiller daha fazla IL-1 β üretmeleri ve kemotaktik ve fagositik özellikleri değiştirmek için trigliseritleri açığa çıkartırlar. Proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerindeki artış sadece serumda değil aynı zamanda tip 2 diabetli hiperlipidemik bireylerin DOS'larında da gözlenir. Artan miktarlardaki sitokinler ve koruyucu fonksiyon ile azalan değerlerdeki growth faktörler arasındaki bu dengesizlik tamir yeteneğini engeller ve doku yıkımını kolaylaştırır.¹⁹

5.7.4. Değişmiş Kollajen Metabolizması

Dişeti, kemik ve deride kollajen sentezi ve çözünürlüğünde çok fazla bir azalma ve hidroksiprolinin, kollajenin aminoasit markırının ve bunun yıkım ürünlerinin üriner salınımındaki esaslı artışını içeren diabete bağlı birçok kollajen anormallikleri tanımlanmıştır. Bu bulgular hastalığın, vücutta çeşitli dokulardan yeni sentezlenen kollajenin azaltılmasını arttırdığını desteklemektedir.^{19,63-65}

Değişen kollajen metabolizması diabetli bireylerin sadece periodontal hastalığa değil gecikmiş yara iyileşmesi gibi diğer bağ dokusu anormalliklerine de yatkın olmalarını sağlar. Diabetli bireylerde DOS kollajenaz aktivitesinde yükselmeler ve gingival fibroblast kollajen sentezinde azalmalar gözlenmiştir.^{19,63-65}

5.7.5. Nötrofil Disfonksiyonu

Periodontal hastalıklı diabetli bireylerde fagositoz ve kemotaksi gibi PMN fonksiyonlarının azaldığı gösterilmiştir.^{19,63-65} PMN disfonksiyonu ile periodontal hastalık arasında kuvvetli bir korelasyon vardır.¹⁹ Diabetli bireylerde periodontal hastalık gelişmesindeki genetik yatkınlık bahsedilen PMN disfonksiyonu ile ilişkili

olabilir.¹⁹ Zayıf kontrollü diabetli bireylerin DOS'larında bulunan artmış glukoz seviyeleri PMN fonksiyonlarının baskılanmasına katkıda bulunabilmektedir ¹⁹. Diabetli bireylerde azalmış fagositoz ve PMN kemotaksisi haricinde diğer defektler de görülmektedir ki bunlar bozulmuş intraselüler ölüm ve adherenstir.¹⁹ İmmün sistemdeki bu defektler diabetli insanlarda periodontal hastalığı tetiklemektedir.^{19,63-65}

5.7.6. Değişmiş Monosit Cevabı

Diabetli bireylerin kanlarında ve DOS'larında inflamasyonun kimyasal mediatörü olan PGE₂ yüksek değerlerde bulunmaktadır.^{19,63-65} DOS-PGE₂ seviyeleri diabetli bireylerin klinik olarak sağlıklı bölgelerinde sistemik olarak sağlıklı ancak periodontitisli bireylerden daha yüksek bulunmuştur.^{19,63-65} Bunun nedeni upregulated monosit fenotipine verilen cevaptır.^{19,63-65}

Diabetli bireylerde dental plak mikroflorası ve periodontal enfeksiyonun rolü üzerine birçok çalışma yapılmıştır fakat hiçbirisi net değildir.^{10,19,20} Değişen mikrofloranın diabetli bireylerde periodontal hastalığın şiddeti ve artan insidansına ya da yıkıma katkıda bulunup bulunmadığı açık değildir. Diabetli bireylerde gerçekleşen bazal membranın kalınlaşması ve hemoglobinin glikolizasyonu gibi değişiklikler olayı iletici bir çevre oluşturur ve mikrobial floranın değişmesiyle sonlanır. Bununla birlikte çalışmalarda diabetli bireylerle olmayanlar arasında mikrobial florada bir fark olmadığını, yıkıcı periodontal hastalığa sebebin patojen mikroorganizmalara verilen konak cevabındaki değişiklikler olduğu belirtilmiştir.^{17,19,22,27,47}

5.8. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Son yıllarda biyoteknoloji alanında yapılan çalışmalar neticesinde çeşitli moleküler biyoloji teknikleri geliştirilmiştir. Bu tekniklerin gelişmesi hastalıklara tanı

konulması ve antimikrobiyal tedavi planlamasında kolaylıklar sağlamaktadır. Moleküler tanısal teknikler, geleneksel yöntemler kullanılarak belirlenmesi zor veya imkansız olan enfeksiyöz ajanların tanımlanmasında çok etkilidirler. Modern seroloji, akım sitometrisi ve elektron mikroskobu gibi araçlar ile birleştirildiğinde moleküler teknikler çok hızlı ve hassas sonuçlar almamızı sağlamaktadırlar.⁷⁵

Bu tekniklerden bir tanesi de mikroorganizma ve klinik materyalden nükleik asitin izole edilerek analizi esasına dayanan Polimeraz Zincir Reaksiyonu'dur.^{75,76} PCR geliştirilmiş ilk amplifikasyon tekniğidir ve halen en çok araştırılan ve uygulanan yöntemdir.⁷⁵ Keza diş hekimliğinde periodontal enfeksiyonlar, maksillofasiyal enfeksiyonlar, bireylerdeki çürük riski ve çeşitli oral hastalıkların gelişiminin araştırılması alanlarında kullanılmaktadır.^{51,76} PCR'ın çok hassas, spesifik ve hızlı bir teknik olması kullanılan diğer tekniklere üstünlüğü olarak kabul edilmektedir. Bu teknik ile alınan klinik numunelerden çok küçük miktarlardaki bakteriyel, viral ve fungal nükleik asitlerin analizleri yapılabilmektedir.⁷⁶

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) yöntemi; bir organizma veya mutant gene ilişkin normal ya da parçalanmış DNA veya RNA'nın in vitro çoğaltılmasına imkan veren bir yöntemdir.^{75,76} İlk olarak 1985 yılında Kary Mulis ve arkadaşları tarafından PCR yöntemi teorik olarak dile getirilmiş daha sonra Saiki ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir.^{75,76} Bu yöntem sayesinde birkaç hücreden elde edilen DNA parçaları çoğaltılabilmekte ve çeşitli amaçlar için kullanılabilir.^{5,6,8,14,75-77}

PCR' dan sonuç elde edebilmek için çeşitli bileşenler kullanılmaktadır. Bunlar istenilen DNA, bu DNA'ya uygun primerler, DNA polimeraz enzimi, magnezyum içeren deoksiribonükleotid trifosfatlar ve reaksiyon tamponlarıdır.^{5,6,8,14,75,77} En sıklıkla

kullanılan polimeraz Taq DNA polimerazdır. Bu enzim rutin amplifikasyonlar için yeterlidir. Daha gelişmiş ve fazla sonuç istenirse farklı enzimler kullanılmaktadır. Magnezyum iyonu ise enzim aktivitesini, primerlerin bağlanmasını, istenilen DNA ve PCR ürünlerinin erime derecelerini etkilemektedir.^{76,78} PCR, DNA'nın kopyalama (replikasyon) kapasitesini araştırmaktadır. Tek iplik DNA, DNA polimeraz enziminin fonksiyonu altında tamamlayıcı yeni zincirin sentezi için şablon (template) olarak kullanılmaktadır. Bu enzim reaksiyonda var olan nükleotidlerin şablona bağlanmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte, DNA polimeraz enzimi sonradan gelen nükleotidin bağlanmasını yönetmek için, şablonda bir başlangıç noktası istemektedir. Sentezin başlama noktası kendini tek şablon ipliğine bağlayabilen bir oligonükleotid tarafından üretilir ki bu oligonükleotid primer olarak adlandırılır.⁷⁶ DNA'nın her bir ipliğine uygun primerler sağlandığında DNA'nın orijinal iki ipliği de sentez için şablon olarak hareket etmektedir. Primerler kendilerini şablon iplikteki tamamlayıcı bölümlere bağlayarak çoğaltılacak DNA parçasını sonlandırmaktadırlar. Böylece sentez edilecek DNA bölgesi primerler tarafından belirlenmektedir.^{76,79} Daha sonra PCR'ın diğer aşamaları gerçekleşmektedir.

PCR üç aşamadan oluşur:

- 1- Çift sarmal DNA'nın denatürasyonu.
- 2- Primerlerin bağlanması (annealing).
- 3- Primerlerin uzaması (extension).

Denatürasyon aşaması: Bu aşamada çoğaltılması istenen çift sarmal DNA, sarmalları bir arada tutan hidrojen bağlarını ayırmak üzere denatüre edilerek tek sarmal haline getirilir. Çift sarmal DNA 95-100 °C ısıtılarak denature edilir. En uygun denaturasyon ortamı 95 °C'de 30 saniye veya 97 °C'de 15 saniyedir. Çoğaltılması

istenilen nükleotid dizisi RNA ise; öncelikle revers transkriptaz ile DNA kopyası elde edilir daha sonra PCR uygulanır.⁷⁶

Primerlerin bağlanması: Bu aşamada uzunluğu en az 17-19 baz olması gereken primerler, denature haldeki DNA molekülü üzerindeki spesifik bölgelere bağlanırlar. Primerlerin uygun bağlanma ısısı 40-60 °C dir. Bir çift olarak hazırlanan primerlerin uzunluğu arttıkça spesifikliği artar fakat DNA ya bağlanması güçleşir. Çift olarak ortama konan primerlerin biri çoğaltılacak DNA'nın bir dalına bağlanırken diğer primer diğer uçtan DNA'nın öteki dalına bağlanır. Böylece çift zincirli DNA molekülünün her iki zinciri de aynı anda sentezlenmiş olur.^{5,76}

Primerlerin uzaması: Bu aşama nükleotidlerin istenilen DNA parçasını tamamlamak için primerlere bağlandığı aşamadır. Bu işlem için termostabil özelliği olan ve *Thermus aquaticus* adlı bakteri türünden elde edilen Taq Polymeras enzimi kullanılır. Bu aşama için optimum sıcaklık 70-75 °C dir.⁷⁶

Uygulanan üç aşama bir döngü kabul edilir, bir döngü 3-5 dakika sürer ve PCR işlemi yaklaşık 20-40 döngüden oluşur. Her döngüde bir önceki döngüdekinin 2 katı DNA molekülü elde edilmiş olur yani döngü sayısı n ise, çoğaltılmış DNA materyalinin miktarı 2^n olarak kabul edilir.⁷⁶ PCR uygulamalarında standart ısı uygulamasını sağlamak amacıyla her döngü için gerekli ısıyı düzenli olarak ayarlayan otomatik aletler (thermocycler) geliştirilmiştir.

Periodontitisin tanısı ve tedavisinin kontrolü için son zamanlarda çeşitli mikrobiyolojik tekniklerden yararlanılmaktadır ve nükleik asitlerin belirlenmesi esaslı teknikler güncelliğini korumaktadır. Birçok laboratuvar multiplex PCR esasına dayanan kendi testlerini kullanmaktadır (Ashimoto ve ark. 1995, Riggio ve ark. 1996). Hain Diagnostika Ltd. (Nehren, Almanya) de microIDent kiti geliştirerek mikrobiyoloji

laboratuvarlarında periodontopatojenik türleri tanı imkanı sunmuştur. Bu test *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythensis*, *T. denticola* türlerinin 16s rDNA'larının PCR'ını takiben reverse hibridizasyonları esasına dayanmaktadır. Daha sonra ise aynı firma 5 periodontopatojene ek olarak aynı yöntemi kullanan microIdent plus kiti geliştirmiştir. Bu kit ile de *P. micros*, *F. nucleatum*, *E. corrodens*, *E. nodatum*, *C. rectus* ve *Capnocytophaga* türlerinin teşhisine imkan vermektedir.

Çalışmamızda literatürlerde periodontal patojen olarak tanımlanmış olan 11 mikroorganizma (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga*) PCR tekniği ile incelendi. Bu çalışmada üzerinde *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythensis* ve *T. denticola* için özel sondları bulunan MicroIDent kit (Hain Lifescience GMBH, Nehren, Germany) ile, *P. micros*, *F. nucleatum*, *E. corrodens*, *E. nodatum*, *C. rectus* ve *Capnocytophaga* türleri için özel sondları bulunan MicroIDent plus kit (Hain Lifescience GMBH, Nehren, Germany) kullanıldı ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Planladığımız bu çalışmamızda, diabetli ve diabetli olmayan kronik periodontitsli bireylerde periodontal patojen mikroorganizmaların PCR yöntemi ile tespit edilmesi ve hastalıklı ve sağlıklı gruplarda patojen mikroorganizmaların dağılımlarının karşılaştırması amaç edinildi.

6. GEREÇ VE YÖNTEM

6.1. Hasta seçimi

Araştırmamıza Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalına başvuran, kronik periodontitisli, kronik periodontitisli ve diabetli bireyler ile farklı sebeplerle fakültemize müracaat eden periodontal ve sistemik yönden sağlıklı bireyler dahil edildi. Araştırmamız çalışma protokolü gereği 4 ayrı grupta ele alındı.

Çalışma grupları;

Grup I: Atatürk Üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesi Dahiliye Kliniği tarafından tip 2 diabet teşhisi almış, klinik ve radyolojik muayeneler sonucu kliniğimizce kronik periodontitis teşhisi konmuş, yaşları 47-70 arasında olan olan 20 bireyden oluşturuldu.

Grup II: Aynı klinik tarafından tip 2 diabet teşhisi almış, periodontal yönden sağlıklı, yaşları 43-65 arasında olan 20 bireyden oluşturuldu.

Grup III: Sistemik açıdan sağlıklı, klinik ve radyolojik muayeneler sonucu kronik periodontitis teşhisi konmuş, yaşları 41-67 arasında olan 20 bireyden oluşturuldu.

Grup IV: Fakültemize farklı sebepler (diş ağrısı, gömük diş, kontrol gibi) ile başvurmuş, sistemik ve periodontal yönden sağlıklı, yaşları 38-59 arasında olan 20 bireyden oluşturuldu.

Araştırmamıza dahil edilen tüm bireylere çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi verilerek onayları alındı. (Ek 1, onay formu)

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin seçiminde belli kriterlere dikkat edildi:

- 1- Herhangi bir sistemik rahatsızlığının bulunmaması. (Grup I ve Grup II için tip 2 diabet hariç)
- 2- Son altı ay içinde periodontal tedavi görmemiş olması
- 3- Sigara içmemesi
- 4- İmmün sistemi veya iltihabi yanıtı etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanmamış olması
- 5- Oral mikroflorayı etkileyecek herhangi bir gargara (CHx % 0.2'lik, povidon iodin gibi) kullanmamış olması
- 6- 3. molar dişler hariç minimum 20 adet dişinin bulunması

6.2. Klinik Çalışma

Tüm çalışma ve kontrol gruplarında periodontal durumu belirlemek için Williams periodontal sondu(Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) aracılığı ile Silness ve Loe'nin plak indeks (PI) ve Loe ve Silness'in gingival indeksi (GI) değerlendirildi. Ayrıca klinik ataşman seviyesi (KAS) ve sondalama derinlikleri (SD) ölçülerek kaydedildi. Klinik ölçümler, bütün dişlerin mezial, distal, meziolingual (palatinal), distolingual, meziobukkal (labial) ve distobukkal yüzlerinde olmak üzere 6 bölgede gerçekleştirildi. Bu altı değerin ortalaması alınarak her bir dişin ortalaması; daha sonra bu değerlerin ortalaması alınarak da bireyin PI, GI, SD, KAS ortalamaları elde edildi. Sonuçlar milimetrik olarak ifade edildi.

Klinik indeks skorları aşağıdaki şekilde değerlendirildi.

Plak İndeksi Skorları: (Silness ve Loe 1964)⁸⁰

0: Dişeti bölgesinde bakteri plağı yok.

1: Çıplak gözle fark edilemeyen, ancak sond ucunun gingival sulkusta

gezdirilmesiyle açığa çıkarılan plak varlığı.

2: Gözle görülür tarzda dişeti kenarında ve diş yüzeyinde orta dereceli plak varlığı.

3: Dişetinde ve diş yüzeyinde yoğun yumuşak birikintilerin mevcudiyeti.

Gingival İndeks Skorları: (Loe ve Silness 1963)⁸¹

0: Sağlıklı dişeti

1: Hafif iltihap, hafif renk değişikliği, hafif ödemle karakterize dişeti, sondalamada kanama yok.

2: Orta dereceli iltihap, dişeti parlak, kırmızı ve ödemlidir. Sondalamada kanama vardır.

3: Şiddetli iltihap, belirgin kırmızılık ve ödem vardır. Ülserasyonlar ve spontan kanamaya meyil mevcuttur.

6.3. Subgingival Plak Örneklerinin Toplanması

Çalışmamızda örnek toplanırken periodontal yıkımın en fazla olduğu yerler tercih edildi. Kontrol grubunda üst 1.molar dişler seçildi. Supragingival plak ve eklentiler steril tamponlarla uzaklaştırıldı. Bölge steril tamponlarla izole edildi, hava spreyi ile belli bir uzaklıktan(5cm) kısa süreli kurutma işlemi yapıldı. Bu işlem esnasında hava spreyinin uygulama yönünün dişeti cebinin (yada gingival sulkus) içine doğru olmamasına dikkat edildi. Daha sonra standart steril paper pointler dişlerin mezial tarafından cebin girişine hafif bir direnç hissedilecek şekilde yerleştirildi. Her periodontal cebe 2 paper point yerleştirildi ve 20 sn beklendi. Paper pointler boş ependorf tüplere konuldu ve DNA izolasyonu yapılana kadar -20°C’de saklandı.

6.4. Paper Pointlerden Periodontal Patojen Bakteri DNA İzolasyonu

Paper pointlerden periodontal patojen bakteri DNA izolasyonu için üretici firma tarafından bize gönderilen Invitek DNA izolasyon kiti kullanıldı.



Resim 1. DNA izolasyon kiti

70°C ve 95 °C ısı blokları hazırlandı. Temiz bir tüpte 400 µl Lysis Buffer G ile 20 µl Proteinaz K karıştırılarak, 5-10 sn vortekslendi. Hazırlanan bu 420 µl karışımı, daha önce örnek alınan ve paper pointlerin olduğu tüplere pipetlendi ve tüpler 30 sn vortekslendi. Vortekslenen tüpler 70 °C 'de 10 dakika karıştırılarak inkübe edildi. Daha sonra tüpler 95 °C ısı bloğuna aktarıldı ve 5 dakika karıştırılarak inkübe edildi. Tüplere 400 µl Binding Buffer B6 eklenip vortekslendi. Spin filtreleri receiver tüplerine yerleştirildi. Hazırlanan karışım spin filtreler aktarıldı ve 1 dakika inkübe edildi. 6000 g'de (8000 rpm) 1 dakika çevirildi. Spin filtreleri çıkarıp süzülen sıvı atıldı ve spin filtreleri receiver tüplerine aktarıldı ve 2 yıkama sürecine tabi tutuldu.

1. yıkama: Tüplere 500 µl Wash Buffer I eklendi ve 6000 g'de (8000 rpm) 1 dakika çevrildi. Filtre edilen sıvı atıldı ve spin filtreleri receiver tüplerine aktarıldı.

2. yıkama: Tüplere 700 µl Wash Buffer II eklendi ve 6000 g'de (8000 rpm) 1 dakika çevrildi. Filtre edilen sıvı atıldı ve spin filtreleri receiver tüplerine aktarıldı. Son olarak 3 dakika tüm etanolü atmak için maksimum hızda santrifüj edildi.

DNA elüsyonu: Spin filtreleri yeni 1.5 ml receiver tüplerine aktarıldı ve 200 µl Elution Buffer D eklendi.

Oda sıcaklığında 1 dakika bekletildikten sonra 1 dakika 6000 g'de (8000 rpm) santrifüj edildi.

Elde edilen DNA'lar bir sonraki işleme kadar -20 °C'de saklandı.

6.5. Amplifikasyon (Çoğaltma) İşlemi

Reaktif	Miktar
PN Miks (PNM)	35 µl
10x PCR Buffer	5 µl
MgCl ₂	5 µl
Termostabil DNA Polymerase (Normal enzim)	0.2 µl
Örnek	5 µl
Toplam PCR reaksiyon Hacmi	50 µl
=	

Amplifikasyon işlemi için gerekli olan reaktiflerden ve örnekten belirtilen miktarlarda alınarak PCR tüplerine konuldu ve özel termocycler cihazına konularak PCR işlemi yapıldı.

Kitlerin içerikleri aynı iken sadece PN Miks solüsyonunun bakılacak patojenlere özel olarak farklı olması nedeniyle Amplifikasyon işlemi 2 ayrı kit için ayrı ayrı yapıldı.



Resim 2. PCR odası



Resim 3. Termocycler

PCR Protokolü:

95 °C	-----	05:00 dakika	1 döngü
95 °C	-----	00:30 saniye	10 döngü
58 °C	-----	02:00 dakika	10 döngü
95 °C	-----	00:25 saniye	20 döngü
53 °C	-----	00:40 saniye	20 döngü
70 °C	-----	00:40 saniye	20 döngü
70 °C	-----	08:00 dakika	1 döngü

Hibridizasyon işlemine ön hazırlık:

Twincubator'ün ısısı 45 ± 1 °C'ye ayarlandı. HYB (hibridizasyon) ve STR (Stringent Wash Solution) solüsyonları 37- 45 °C'ye kadar ısıtıldı. Diğer yandan CON-C (conjugate) ve SUB-C (substrate) (+4 °C'de korunur) dışında ki diğer tüm solüsyonlar oda sıcaklığında bekletilerek ısıtıldı.

Uygun tüpler kullanılarak CON-C ve SUB-C konsantreleri kendi sulandırma solüsyonları ile, yani CON-C, CON-D ile SUB-C, SUB-D ile 1:100 oranında sulandırıldı. Her bir strip için; 10 µl konsantre + 1 ml (1000 µl) sulandırma solüsyonu kullanıldı.

6.6. Hibridizasyon İşlemi

1. 20 µl DEN (denatürasyon) solüsyonu her tray'in (striplerin yerleştirildiği plate) örneklerin çalışılacağı kuyucuklarının köşelerine pipetle taşındı.

2. 20 µl PCR ile çoğaltılmış örnekler DEN solüsyonuna pipetlenerek

karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.

Bu sırada pens ile her bir örnek için bir strip alındı ve bu strip'in işaretli ucu kurşun kalem ile numaralandırıldı. Bu işlemler sırasında striplere çıplak el ile temas edilmemesine dikkat edildi.

3. Tray'in örneklerin konulduğu kuyucuklarına dikkatlice önceden ısıtılmış 1 ml HYB (yeşil renkli solüsyon) solüsyonu konulup homojen renk elde edilene kadar yavaşça çalkalandı.

4. Stripler dikkatlice trayin kuyularına yerleştirildi.

5. Tray önceden hazırlanan su banyosu ya da Twincubator'da 45 ± 1 °C'de 30 dakika çalkalanarak inkübe edildi.

6. Hibridizasyon solüsyonu pasteur pipet ya da vakum pompası kullanılarak tamamen kuyucuklardan boşaltıldı.

7. Her bir kuyucuğa 1 ml STR (kırmızı renkli solüsyon) solüsyonu eklendi ve 15 dakika 45 ± 1 °C'de çalkalanarak inkübe edildi.

8. STR solüsyonu kuyucuklardan tray atık kabına komple şekilde dökülerek boşaltıldı ve kuyucuklar içerisinde kalan bir miktar sıvıda yine tray ters çevrilerek üst ucu kurutma kağıdına emdirilerek uzaklaştırıldı.

9. Her bir kuyucuktaki strip üzerine bir kez 1ml RIN (Rinse Solution) solüsyonu eklenerek 1 dakika çalkalanarak yıkandı. Daha sonra bu sıvı bir önceki maddede anlatıldığı gibi dökülerek boşaltıldı.

10. Kuyucuklardaki striplerin üzerine 1 ml daha önceden sulandırılmış Conjugate eklendi ve 30 dakika çalkalanarak inkübe edildi.

11. İnkübasyon sonrası Conjugate dökülerek boşaltıldı. Ve her bir strip 2 kez 1 ml RIN (Rinse Solution) 1 kez de 1 ml distile su ile 1'er dakika çalkalanarak yıkandı.

Son yıkamadan sonra tray döküldükten sonra kuyucuklarda sıvı kalmamış olmasına dikkat edildi.

12. Her bir strip üzerine 1 ml daha önceden sulandırılmış Substrate solüsyonu eklendi ve karanlıkta test koşullarına bağlı olarak (oda sıcaklığı gibi) bantların oluşmasına göre 3 ile 20 dakika arasında çalkalamadan inkübe edildi.

Çok uzun süreli inkübasyonlar stribin kararmasına sebep olabileceği ve de yanlış değerlendirmelere yol açabileceği için bu basamak inkübasyon süresi kontrollü bir şekilde takip edilerek sonlandırıldı .

13. Bant oluşma işlemi striplerin iki kez distile su ile yıkanması ile sonlandırıldı.

14. Son olarak, stripler kuyucuklardan alınarak kurutma kağıdının arasına konularak kurutuldu ve değerlendirme aşamasına geçildi.



Resim 4. hibridizasyon kiti



Resim 5. hibridizasyon işlemi

6.7. Sonuç Değerlendirme

Çalışmanın kabul edilebilir olması için konjugat kontrol bölgesinin ve üniversal kontrol bölgesinin oluşup oluşmadığına bakıldı.

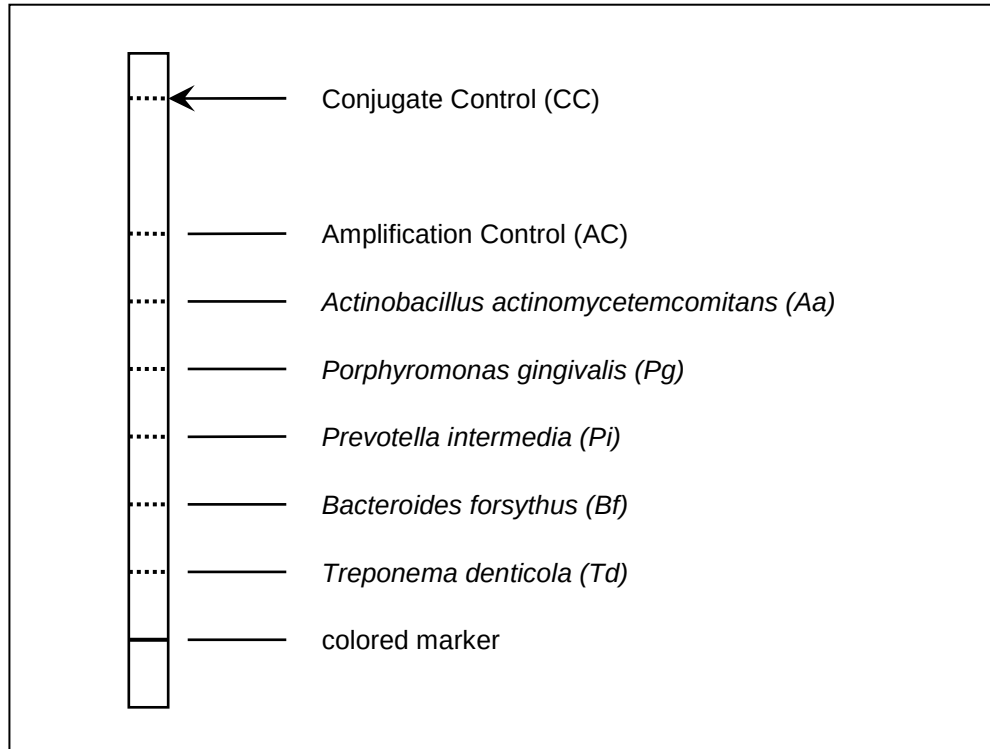
1) Konjugat Kontrol Bölgesi:

Konjugat kontrolü strip üzerinde konjugat bağlanma ve substrat reaksiyonunun verimliliğini göstermektedir. Konjugat kontrol bandının oluşması gerekmektedir.

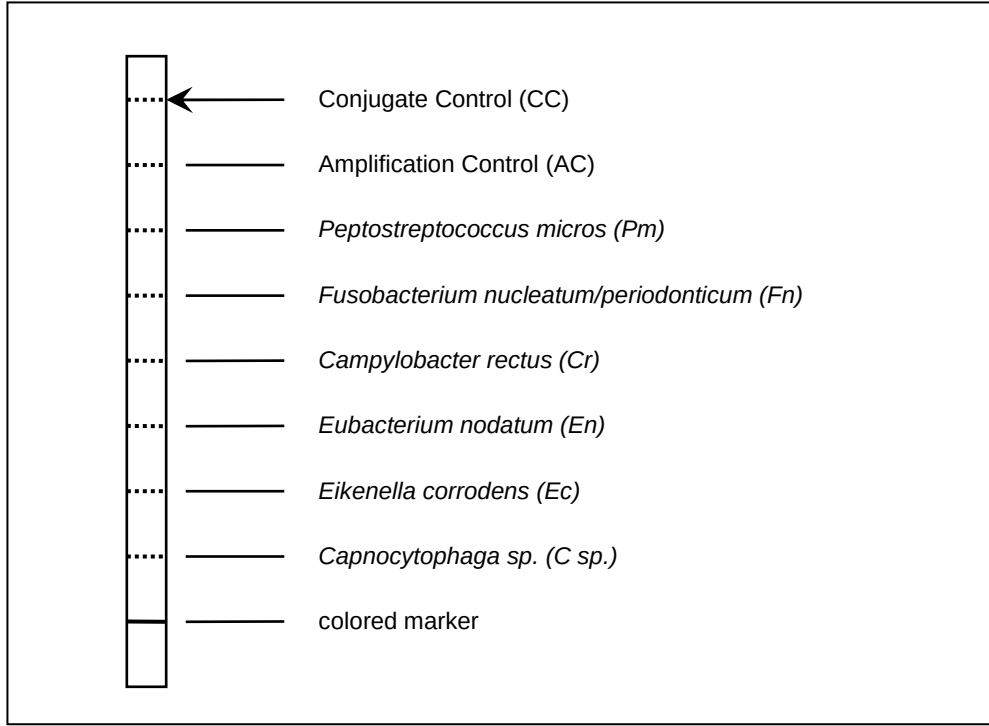
2) Üniversal Kontrol Bölgesi:

Amplifikasyon işleminin verimliliğini gösterir. Her zaman oluşmalıdır.

Eğer diğer band paternleri çıkmamışsa Üniversal kontrol mutlaka çıkmalıdır. Ancak diğer band paternleri çıkmışsa üniversal kontrolde çıkan band daha zayıf olabilir. Bu durumda testi tekrar etmeye gerek yoktur.

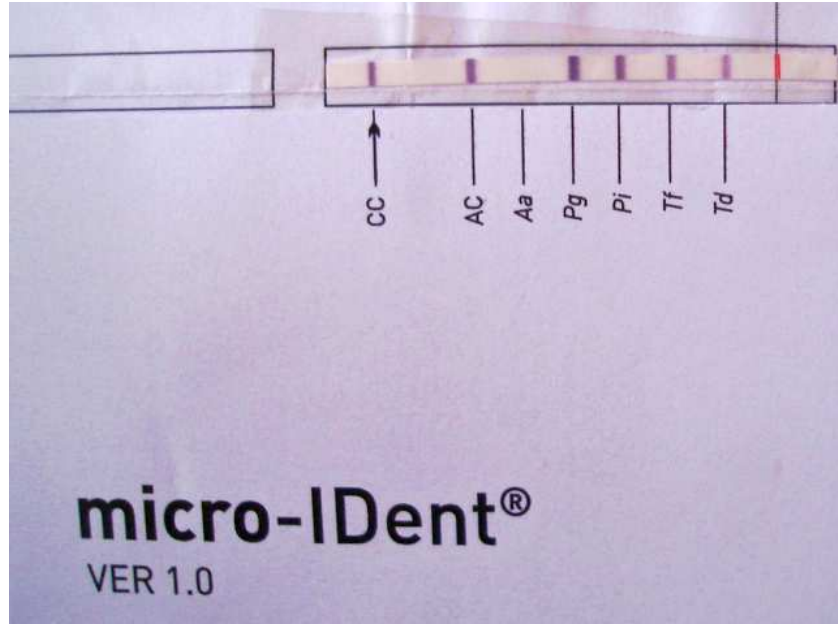


Şekil 3. MicroIdent kiti değerlendirme şablonu

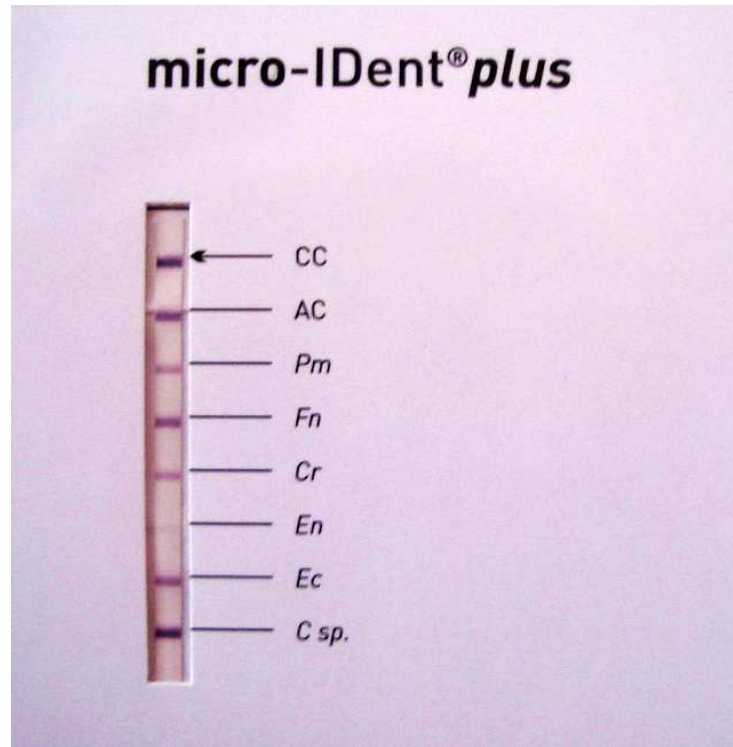


Şekil 4. MicroIdent plus kiti değerlendirme şablonu

Kağıt havlu ile kurutulan stripler üretici firma tarafından gönderilen şablonların üzerine konularak değerlendirme işlemi yapıldı.



Resim 6. micro-IDent sonuç değerlendirme



Resim 7. micro-IDent plus sonuç değerlendirme

Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve grupların karşılaştırılmasında SPSS 14 paket programı ile ki-kare testi, 2x2 düzlemlerde ise Fisher's exact testi kullanıldı.

7. BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen 80 hastanın (40'ı erkek, 40'ı kadın) yaşları 38-70 arasında olup, yaş ortalamaları 56.68 ± 12.66 idi.

Elde edilen bulgular klinik ve laboratuvar bulguları olmak üzere sınıflandırıldı ve değerlendirildi.

7.1. Klinik Bulgular

Çalışmamıza dahil edilen 4 gruba ait bireylerden elde edilen plak indeksi (Pİ), gingival indeks (Gİ), klinik ataşman seviyesi (KAS) ve sondalama derinliği (SD) ölçümleri Tablo 1'de gösterildi.

Gruplar arasında yaş dağılımı açısından istatistiksel anlamda farklılıklar bulunmadı ($p > 0.05$).

Plak indeksi değerleri açısından grup II ile grup IV ve grup I ile grup III arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark tespit edilmezken ($p > 0.05$) diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde farklılıklar elde edilmiştir ($p < 0.001$).

Benzer değerlendirme gingival indeks için de yapıldı ve plak indeksin bulgularına paralel bulgular gingival indeks için de elde edildi.

Sondalama derinliği değerleri açısından gruplar arasında grup I ile grup II, grup I ile grup IV, grup II ile grup III ve grup III ile grup IV arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılıklar elde edilirken ($p < 0.001$) diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$).

Klinik ataşman seviyeleri açısından da sondalama derinliği bulgularına paralel bulgular bulundu.

Tablo 1. Klinik parametreler

	Yaş		Pİ		Gİ		SD(mm)		KAS(mm)	
Gruplar n=20	X±sd	p	x±sd	p	x±sd	p	x±sd	p	x±sd	p
Grup I	57.70±10.29	0.347ns	1.90±0.56	0.000***	1.70±0.67	0.000****	6.50±0.70	0.000***	7.20±0.48	0.000***
Grup II	55.60±6.4		0.20±0.42		0.60±0.32		2±0		0.00±0.00	
Grup I	57.70±10.29	0.347ns	1.90±0.56	0.500ns	1.70±0.67	0.500ns	6.50±0.70	0.302ns	7.20±0.48	0.882ns
GrupIII	54.90±10.68		1.80±0.63		1.50±0.52		5.80±0.78		6.70±0.94	
Grup I	57.70±10.29	0.882ns	1.90±0.56	0.000***	1.70±0.67	0.000***	6.50±0.70	0.000***	7.20±0.48	0.000***
GrupIV	49.50±4.69		0.20±0.97		0.54±0.35		2±0		0.00±0.00	
Grup II	55.60±6.4	0.347ns	0.20±0.42	0.000***	0.60±0.32	0.000***	2±0	0.000***	0.00±0.00	0.000***
GrupIII	54.90±10.68		1.80±0.63		1.50±0.52		5.80±0.78		6.70±0.94	
Grup II	55.60±6.4	0.302ns	0.20±0.42	0.500ns	0.60±0.32	0.500ns	2±0	0.500ns	0.00±0.00	-
GrupIV	49.50±4.69		0.20±0.97		0.54±0.35		2±0		0.00±0.00	
GrupIII	54.90±10.68	0.291ns	1.80±0.63	0.000***	1.50±0.52	0.000***	5.80±0.70	0.000***	7.70±0.48	0.000***
GrupIV	49.50±4.69		0.20±0.97		0.54±0.35		2±0		0.00±0.00	

ns p>0,05 istatistiksel olarak anlamlı değil
 * p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı
 ** p<0,01 istatistiksel olarak çok anlamlı
 *** p<0,001 istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı

7.2. Laboratuvar Bulguları

Laboratuvar çalışmalarımızda incelediğimiz mikroorganizmaların gruplar içinde sayı ve yüzde olarak dağılımları Tablo 2’de gösterildi.

Diabetli kronik periodontitisli 20 bireyin oluşturduğu grup I’de periodontopatojen dağılımına baktığımızda *A.actinomycetemcomitans* hiçbir bireyde bulunmadı. *P.intermedia*, *T.forsythensis*, *T.denticola*, *P.micros* 16, *P.gingivalis*, *Capnocytophaga* türleri ve *F.nucleatum* 14 bireyde tespit edildi. *C.rectus* 12, *E.nodatum* 10 ve *E.corrodens* 8 bireyde bulundu(Tablo 2).

Diabetli periodontitisi bulunmayan bireylerin oluşturduğu Grup II’de *P.intermedia*, *C.rectus* ve *E.nodatum* hiçbir bireyde bulunmadı. *F.nucleatum*, *E.corrodens* ve *Capnocytophaga* türleri 20 bireyin tümünde tespit edildi. Bu grupta *P.micros* 14, *A.a* 8, *P.gingivalis* 4, *T.forsythensis* ve *T.denticola* ise 2 bireyde bulundu(Tablo 2).

Çalışmamızın 3. grubunu oluşturan sistemik olarak sağlıklı kronik periodontitisli 20 bireyin hepsinde *P.gingivalis*, *T.denticola*, *F.nucleatum* ve *C.rectus* bulundu. *T.forsythensis* 18, *P.intermedia* ve *E.nodatum* 16, *P.micros*, *E.corrodens* ve *Capnosytophaga* türleri 12 bireyde *A.a* ise 2 bireyde tespit edildi(Tablo 2).

Çalışmamızın 4. grubunu oluşturan sağlıklı grupta ise *P.intermedia*, *T.forsythensis*, *T.denticola*, *P.micros*, *C.rectus* ve *E.nodatum* hiçbir bireyde bulunmadı. *F.nucleatum*’un 18 bireyde olduğu görüldü. *Capnosytophaga* türleri 14, *E.corrodens* 10, *A.a* 6, *P.gingivalis* ise 4 bireyde görüldü (Tablo 2).

Tablo 2. Çalışma gruplarında mikroorganizmaların sayı ve yüzde olarak dağılımı

	Grup I		Grup II		Grup III		Grup IV	
	n=20	%	n=20	%	n=20	%	n=20	%
Aa	0	-	8	40	2	10	6	30
Pg	14	70	4	20	20	100	4	20
Pi	16	80	0	-	16	80	0	-
Tf	16	80	2	10	18	90	0	-
Td	16	80	2	10	20	100	0	-
Pm	16	80	14	70	12	60	0	-
Fn	14	70	20	100	20	100	18	90
Cr	12	60	0	-	20	100	0	-
En	10	50	0	-	16	80	0	-
Ec	8	40	20	100	12	60	10	50
Cspec	14	70	20	100	12	60	14	70

Socransky'nin patojen mikroorganizmaların etkilerini esas alarak yaptığı sınıflandırmaya dayanarak ele aldığımız patojenlerden periodontitisle çok kuvvetli ilişkisi bulunan mikroorganizmaların gruplar arası karşılaştırması Tablo 3 'te yansıtıldı.

A.actinomycetemcomitans'ın grup I ile grup II, grup I ile grup IV ve grup II ile grup III arasında istatistiksel olarak anlamlı dağılım gösterdiği tespit edildi ($p<0.05$), ($p<0.01$). Diğer gruplar arasında *A.actinomycetemcomitans*'ın dağılımı istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 3).

P.gingivalis'in gruplar arası dağılımına baktığımızda ise sadece grup II ile grup III arasındaki dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ($p>0.05$), diğer gruplar arasındaki dağılımının ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$), ($p<0.001$) (Tablo 3).

T.forsythensis'in grup I ile grup III ve grup II ile grup IV arasındaki dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0.05$) diğer gruplar arası dağılımının ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p<0.001$) (Tablo 3).

T.denticola için de yapılan gruplar arası değerlendirmede *T.forsythea*'nın bulgularına paralel bulgular elde edildi (Tablo 3).

Tablo 3. Periodontitisle çok kuvvetli ilişkili olan patojenlerin gruplar arası dağılımı

	Aa		Pg		Tf		Td		
Gruplar	n=20	%p	n=20	%p	n=20	%p	n=20	%p	
Grup I	0	-	0.003**	14	70	0.000***	16	80	0.000***
Grup II	8	40		4	20		2	10	
Grup I	0	-	0.237ns	14	70	0.043*	16	80	0.237ns
Grup III	2	10		20	100		18	90	
Grup I	0	-	0.005**	14	70	0.000***	16	80	0.000***
Grup IV	6	30		4	20		0	-	
Grup II	8	40	0.043*	4	20	0.000***	2	10	0.000***
Grup III	2	10		20	100		18	90	
Grup II	8	40	0.302ns	4	20	0.500ns	2	10	0.302ns
Grup IV	6	30		4	20		0	-	
Grup III	2	10	0.291ns	20	100	0.000***	18	90	0.000***
Grup IV	6	30		4	20		0	-	

ns $p>0,05$ istatistiksel olarak anlamlı değil
 * $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı
 ** $p<0,01$ istatistiksel olarak çok anlamlı
 *** $p<0,001$ istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı

Socransky'nin patojenite sıralamasına göre periodontitisle kuvvetli ilişkisi bulunan *P.intermedia*, *C.rectus* ve *E.nodatum*'un gruplar arası dağılımı ve değerlendirmesi Tablo 4'te gösterildi.

Grup II ve grup IV'te *P.intermedia* hiç bulunmadığı için bu iki grup arasında istatistiki değerlendirme yapılmadı. Grup I ile grup III arasındaki dağılımı ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Diğer gruplar arasında ise *P.intermedia*'nın istatistiksel olarak anlamlı dağılım gösterdiği bulundu ($p<0.001$) (Tablo 4).

C.rectus için yaptığımız değerlendirmede yine grup II ve grup IV'te bu mikroorganizma hiç bulunmadığı için değerlendirme yapılmadı. Diğer bütün gruplar arası değerlendirmede *C.rectus*'un istatistiksel olarak anlamlı dağılım gösterdiği tespit edildi. ($p<0.01$), ($p<0.001$) (Tablo 4).

P.intermedia ve *C.rectus* gibi *E.nodatum* da diabetli periodontal olarak sağlıklı bireylerin oluşturduğu grup II ile sağlıklı bireylerin oluşturduğu grup IV'te hiçbir bireyde bulunmadı. Bu nedenle bu iki grup arasında istatistiki değerlendirme yapılmadı. *E.nodatum*'un diğer bütün gruplar arası değerlendirmelerimizde istatistiksel olarak anlamlı dağılım gösterdiği tespit edildi ($p<0.05$), ($p<0.001$) (Tablo 4).

Tablo 4. Periodontitisle kuvvetli ilişkili olan patojenlerin gruplar arası dağılım

	Pi		Cr		En	
Gruplar	n=20	% p	n=20	% p	n=20	% p
Grup I	16	80	12	60	10	50
Grup II	0	-	0	-	0	-
		0.000***		0.000***		0.000***
Grup I	16	80	12	60	10	50
Grup III	16	80	20	100	16	80
		0.500ns		0.003**		0.043*
Grup I	16	80	12	60	10	50
Grup IV	0	-	0	-	0	-
		0.000***		0.000***		0.000***
Grup II	0	-	0	-	0	-
Grup III	16	80	20	100	16	80
		0.000***		0.000***		0.000***
Grup II	0	-	0	-	0	-
Grup IV	0	-	0	-	0	-
		-		-		-
Grup III	16	80	20	100	16	80
Grup IV	0	-	0	-	0	-
		0.000***		0.000***		0.000***

ns p>0,05 istatistiksel olarak anlamlı değil
 * p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı
 ** p<0,01 istatistiksel olarak çok anlamlı
 *** p<0,001 istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı

Patojenite sıralamasında periodontitisle orta derecede ilişkili olduğu bildirilen P.micros, F.nucleatum, E.corrodens ve Capnocytophaga türlerinin gruplar arası dağılımı ve değerlendirmesi Tablo 5’te gösterildi.

P.micros ile alakalı olarak grup I’in grup II ve grup III ile, grup II’nin grup III ile arasındaki dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p>0.05)(Tablo 5).

Aynı değerlendirmenin yapıldığı F.nucleatum’un ise sadece grup I’in grup II ve grup III ile arasında anlamlı bir dağılım gösterdiği tespit edildi (p<0.05)(Tablo 5).

E.corrodens'in grup I ile grup III , grup I ile grup IV ve grup III ile grup IV arasındaki dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p>0.05$))(Tablo 5).

Capnocytophaga türlerinin grup I ile grup II, grup II ile grup III ve grup II ile grup IV arasındaki dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$),($p<0.001$)(Tablo 5).

Tablo 5. Periodontitisle orta derecede ilişkili olan patojenlerin gruplar arası dağılımı

	Pm			Fn			Ec			C spec		
Gruplar	n=20	%	p	n=20	%	p	n=20	%	p	n=20	%	p
Grup I	16	80	0.347ns	14	70	0.043*	8	40	0.000***	14	70	0.043*
Grup II	14	70		20	100		20	100		20	100	
Grup I	16	80	0.199ns	14	70	0.043*	8	40	0.199ns	14	70	0.347ns
Grup III	12	60		20	100		12	60		12	60	
Grup I	16	80	0.000***	14	70	0.217ns	8	40	0.302ns	14	70	0.500ns
Grup IV	0	-		18	90		10	50		14	70	
Grup II	14	70	0.347ns	20	100	0.500ns	20	100	0.003**	20	100	0.003**
Grup III	12	60		20	100		12	60		12	60	
Grup II	14	70	0.000***	20	100	0.302ns	20	100	0.000***	20	100	0.043*
Grup IV	0	-		18	90		10	50		14	70	
Grup III	12	60	0.000***	20	100	0.302ns	12	60	0.302ns	12	60	0.347ns
Grup IV	0	-		18	90		10	50		14	70	

ns $p>0,05$ istatistiksel olarak anlamlı değil
 * $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı
 ** $p<0,01$ istatistiksel olarak çok anlamlı
 *** $p<0,001$ istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı

8. TARTIŞMA

Periodontitis, tip 2 diabetli bireylerde en çok görülen oral komplikasyondur ve diabetes mellitusun altıncı komplikasyonu olarak tanımlanmaktadır.²⁶ Bu bağlamda diabetli ve diabetli olmayan kronik periodontitisli bireylerde 11 periodontal patojen mikroorganizmanın PCR yöntemi ile incelenmesinin esas alındığı çalışmamızda diabetin periodontal patojen mikroorganizmaların dağılımı üzerinde etkili olup olmadığı klinik ve laboratuvar bulgularına dayanılarak değerlendirildi.

Periodontal patojeniteleri daha önceki çalışmalarda ispatlanmış olup ^{4-7,9-12,14,20,40,49-51,77,82-89} en etkilileri olan *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythensis*, *T. denticola*, *P. micros*, *F. nucleatum*, *E. corrodens*, *E. nodatum*, *C. rectus* ve *Capnocytophaga* türlerinin tip 2 diabetli kronik periodontitisli ve nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde karşılaştırmalı olarak incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmadığından dolayı bu araştırma planlandı.

Diabet ve periodontal hastalık farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda en sık gözlenen iki kronik hastalıktır. Bu iki hastalık arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma yapılmıştır.^{17,18,23,24,68} Mikrovasküler hastalık, dişeti oluğu sıvısı komponentlerinin değişimi, kollajen metabolizmasındaki değişiklik, değişmiş konak cevabı, değişmiş subgingival flora, genetik yatkınlık ve nonenzimatik glikasyon gibi mekanizmaların diabet ve periodontitis arasındaki ilişkiyi sağladıkları bildirilmiştir.^{61,68,90}

Tip 2 diabet erişkin bireylerde görülmekte ve periodontitis için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Kronik periodontitis de genellikle erişkin bireylerde görülen en yaygın periodontitis tipidir.¹³ Bu iki hastalık arasında çift taraflı bir ilişki varlığı belirtilmiştir.^{2,17-35} Bu nedenle çalışmamıza dahil edilen gruplar tip 2 diabetli ve kronik

periodontitisli bireylerden oluşturuldu. Hasta seçiminde daha önceki çalışmalarda ele alınan belli kriterler esas alındı.^{6,11,14,18,19,85,86}

Hem tip 2 diabetin hem de kronik periodontitisin yaş ile ilişkisi olduğu, artan yaş ile birlikte bu iki hastalığın prevalansında da artış olduğu bildirilmiştir.^{2,19,25} 1342 Pima yerlisi ile yapılan bir çalışmada bireyler 3 farklı yaş grubu altında toplanmış, artan yaş ile birlikte tip 2 diabet ve periodontitis görülme sıklığı da artmıştır.² Literatürler ışığında çalışmamıza katılan bireyler arasındaki değerlendirmenin sağlıklı olması açısından benzer yaş gruplarındaki bireyler çalışmamıza dahil edilmiş olup bu nedenle gruplar arası değerlendirmemizde elde edilen verilerde yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda klinik veriler, Silness-Löe'nin plak indeksi⁸⁰ ve Löe-Silness'in kanama indeksleri⁸¹ ışığında değerlendirildi. Keza bu indeksler periodontal sağlık durumu hakkında en güvenilir sonuçları verdiklerinden dolayı daha önceleri de pek çok çalışmada tercih edilmiştir.⁹¹⁻⁹³

Çalışmamızda kullandığımız diğer parametrelerden sondalama derinliği ve klinik ataşman seviyeleri ölçümleri periapikal radyografilerle desteklenerek değerlendirilmeye çalışıldı. Bu paralelde daha önceleri yapılmış olan 2 çalışmada Grossi ve arkadaşları⁹⁴ ile Dolan ve arkadaşları⁹⁵ diabetli bireylerde ataşman kaybının diabetli olmayanlardan yaklaşık olarak 2 kat daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Shlossman⁹⁶ 1990'da yaptığı bir çalışmada tip 2 diabetli bireylerin periodontal durumlarını araştırmış ve çalışmasının sonucunda diabetin periodontal yıkımda risk faktörü olabileceği üzerinde durmuştur. Löe⁹⁷ 1993'te yaptığı bir çalışmada ise tip 2 diabetik bireylerdeki alveol kemiği yıkımının diabetik olmayan bireylere göre daha fazla olduğunu bildirmiştir. Yuan K ve arkadaşları ise tip 2 diabetli bireylerle yaptıkları bir çalışmada

klirik bulguların diabetiklerle nondiabetikler arasında fark göstermediğini belirtmişlerdir.²⁰ Bizim çalışmamızda klinik parametreler, periodontal olarak sağlıklı diabetli ve periodontal olarak sağlıklı nondiabetik bireyler arasında karşılaştırıldığında Pİ, Gİ, SD ve KAS değerlerinin anlamlı farklılık göstermediği bulundu. Aynı değerlendirme diabetli kronik periodontitisli bireylerle nondiabetik kronik periodontitisli bireyler arasında da yapıldı ve klinik parametreler açısından anlamlı farklılık bulunmadı. Sonuçlarımız Yuan K ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmayı desteklemektedir.²⁰

Subgingival plak örneği almak için genellikle 2 yöntem kullanılmaktadır. Birincisi steril küretlerin kullanıldığı tekniktir. Diğeri ise paper pointlerin kullanıldığı tekniktir. Steril küretlerle örnek alma işleminde cebin en derin noktasına ulaşmanın zor olduğu bildirilmiştir.^{6,8,98,99} Paper pointler kullanılarak subgingival örnek alma işleminin dezavantajı ise dokulara sıkı tutunan plağın mikroorganizmalarının paper point üzerine tam olarak tutunamamasıdır.⁸ Diğeri bir rahatsız edici husus ise periodontal cebe paper point girinceye kadarki süre içinde sterilliğin sağlanmasıdır.⁸ Dikkatli kurulama, supragingival plağın kaldırılması ve diş yüzeyinin temizlenmesi tam olarak örnek toplanması için steril bir ortam sağlamamaktadır. Bundan dolayı; cebe girişinden çıkışına kadar paper pointin subgingival biyolojik materyal ile kontamine olma olasılığını hariç tutmak imkansızdır.⁸ Dezavantajlarına rağmen cebin en derin noktasına ulaşabilmesi, hastaya rahatsızlık vermemesi ve üretici firmanın önerisi doğrultusunda subgingival örnekler steril paper pointler kullanılarak alındı.

Anaerobik türler için periodontal ceplerin apikal bölgeleri uygun yerlerdir. Bu nedenle mikrobiyolojik teşhis için subgingival plak örneklemede paper pointler daha sık kullanılmaya başlanmıştır.^{6,98} Paper pointin ISO boyutu, hammaddesi, sulkusta kalış

süresi önemlidir. Hartroth ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada subgingival örnekleme için optimum paper point kalınlığının ISO 45 olduğunu belirtmişlerdir.⁹⁸ Ayrıca paper pointler ile aynı araştırmada subgingival örnek almak için daha önceden belirtilen optimum zamanın 60sn olduğunu ancak 5-30 sn arasındaki zamanın da örnek kalitesini etkilemediğini bulmuşlar ve kendileri de çalışmalarında paper pointleri periodontal cep içerisinde 20 sn bekletmişlerdir.⁹⁸ Yine Nonnenmacher ve arkadaşları da yaptıkları bir çalışmada paper pointleri periodontal cep içerisinde 20sn bekletmişlerdir.¹¹ Çalışmamıza dahil olan bireylerin subgingival plak örnekleri literatürlerle uyumlu olarak ISO 45 kalınlığındaki standart steril paper pointler periodontal cep içerisinde 20sn bekletilerek alındı.

Çalışmamızda mikroorganizma analizleri PCR tekniği ile değerlendirildi. Bilindiği üzere periodontal patojenleri tesbit etmek için ELISA, enzim testleri, DNA sondları, anaerobik kültür ve PCR gibi birçok teknik kullanılmaktadır.³⁹ Ancak son yıllarda subgingival plakta bulunan seçilmiş özel bakteri türlerinin varlığını ortaya çıkarmada en sık PCR tekniği kullanılmaktadır. Konu ile ilgili literatürler incelendiğinde, pahalı olması, kantitatif sonuç vermemesi sadece varlık ve yokluk belirtmesi gibi dezavantajlarına rağmen hızlı ve basit olması ayrıca çok az sayıdaki hücrelerden analiz yapılabilmesi PCR tekniğini diğer tekniklerden avantajlı kılmaktadır. Aynı zamanda çok hassas ve spesifik olması diğer bir üstün özelliği olarak tanımlanmıştır.^{39-41,51,75,76}

Diabetli bireylerde periodontal hastalığın patogenezi ile ilgili olarak önceden yapılmış çalışmalarda bazal membranın kalınlaşması ve damarlardaki olası değişiklikler üzerinde durulmuştur.^{20,26,37,38} Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise periodontal

enfeksiyonun önemi, kollajen metabolizması, lökosit fonksiyonu, konak savunması ve mikrobiyal dental plak mikroflorası üzerinde yoğunlaşmıştır.^{19,20,26}

Diabetli bireylerle nondiabetik bireylerin subgingival mikrobial florasında bir fark olmadığını, yıkıcı periodontal hastalığa sebebin patojen mikroorganizmalara verilen konak cevabındaki değişiklikler olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır.^{17,19,22,27,29,47} Diabetik bireylerdeki kronik periodontitis, hiperglisemi nedeni ile oluşan hücresel ve moleküler değişiklikler ile Gram (-) enfeksiyona konağın oluşturduğu inflamatuvar yanıt nedeniyle oluşmaktadır.^{36,68} Periodontal cepteki kronik enfeksiyon ve Gram (-) mikroorganizmalar değişikliğe uğramış glikolize hücrelere (AGE) etki eder ve bu durum diabet bulunan bireylerin savunma hücrelerinde proenflamatuvar ve katabolik medyatörlerin yüksek miktarlarda ortaya çıkmasına neden olur.⁵² Bu nedenle de diabetik bireylerdeki periodontitiste meydana gelen doku yıkımı daha şiddetli olmaktadır.³⁶

Periodontitisle ilişkili olan seçilmiş bir grup patojen mutlaka diabetik faktörlerden etkilenmemektedir.^{10,18} Bu sonuçla diabetli ve diabetiz bireylerdeki periodontitisle ilişkili patojenlerdeki benzerlikler enfeksiyöz etiyoloji açısından farklılık göstermemektedir.¹⁸

Birçok araştırmacı *A. actinomycetemcomitans*'ın agresif periodontitis ile ilişkili olmasına rağmen bazı kronik periodontitisli bireylerde de bulunabildiğini belirtmişlerdir.^{34,41,50} Nitekim kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde Cortelli ve arkadaşları⁸⁶ % 41.6, Boutaga ve arkadaşları¹⁰⁰ %27.4, Zambon ve arkadaşları¹⁰¹ %11 oranında *A. actinomycetemcomitans* varlığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde literatürlerle uyumlu olarak *A. actinomycetemcomitans*'ın %10 oranında mevcut olduğu

gözlemlendi. Diabetli kronik periodontitisli bireylerle yapılan tek bir çalışmada²⁰ % 6.7 oranında *A. actinomycetemcomitans* varlığının rapor edilmesine rağmen bizim benzer grubumuzda yaptığımız değerlendirmede şaşırtıcı olarak hiçbir bireyde tespit edilmemiştir. Konu ile ilgili daha fazla çalışma yapılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Haffajee ve arkadaşları *A. actinomycetemcomitans*'ın periodontal olarak sağlıklı bireylerde hastalıklı bireylerden anlamlı olarak fazla bulunduğunu rapor etmişlerdir.⁵³ Ximenez-Fyvie ve arkadaşları da *A. actinomycetemcomitans*'ın periodontal olarak sağlıklı bireylerde daha fazla bulunduğunu söylemişlerdir.⁸⁵ Yapılan benzer çalışmalarda Winkelhoff⁹ kronik periodontitisli bireylerde *A. actinomycetemcomitans*'ın periodontal olarak sağlıklı bireylerden fazla olduğunu belirtirken, Yuan K ve arkadaşları²⁰ ise diabetli ve nondiabetik kronik periodontitisli ve sağlıklı bireylerde bu mikroorganizmanın benzer oranlarda bulunduğunu belirtmiştir. Bizim çalışmamızda da *A. actinomycetemcomitans*'ın periodontal olarak sağlıklı diabetik ve non diabetik bireylerde, kronik periodontitisli diabetik ve nondiabetiklerden fazla olduğu bulundu.

Holt ve arkadaşları¹⁰², Slots ve Ting¹⁰³, Socransky ve arkadaşları¹⁰⁴ 1999 yılında ayrı ayrı *P. gingivalis*'in periodontal patojen olarak etiyolojik rolü olduğunu ve kronik periodontitis ile ilişkili olduğunu desteklemişlerdir. Lau ve arkadaşları⁹⁹ 2004 yılında subgingival plak örneklerinde *A.a*, *P. gingivalis* ve *T. forsythia*'nın varlığını PCR ve kültür teknikleri ile araştırmış ve periodontitisli bireylerin % 81.3'ünde *P. gingivalis* bulunduğunu bildirmişlerdir. Ezzo ve arkadaşları⁵⁰ da 2003 yılında yaptıkları çalışmalarında *P. gingivalis*'in kronik periodontitisli bireylerde en fazla bulunan mikroorganizmalardan biri olduğunu söylemişlerdir. Zambon ve arkadaşları⁸⁶ da bir

alışmalarında kronik periodontitisli bireylerde *P. gingivalis* prevalansını % 100 olarak bulmuşlardır. Bizim alışmamızda da kronik periodontitisli grubun bütün bireylerinde *P. gingivalis*'in varlığı tespit edilmiştir. Bulgularımız literatürlerle uyumludur.

Tervonen ve arkadaşlarının¹⁰ 1994'te yaptıkları bir çalışmada periodontitisli diabetik bireylerde en fazla görülen periodontal patojenin *P. gingivalis* olduğu belirtilmiştir. Thorstensson ve arkadaşları¹⁰⁵ da 1995 yılında yaptıkları araştırma neticesinde diabetli bireylerden alınan subgingival numunelerde *P. gingivalis*'in daha fazla bulunduğunu bildirmişlerdir. Zambon ve arkadaşları¹⁰¹ da tip 2 diabetli periodontitisli bireylerle yaptıkları bir ELISA çalışmasında tip 2 diabetli bireylerin % 75'inde *P. gingivalis* bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bizim bulgularımıza göre *P. gingivalis* diabetli kronik periodontitisli bireylerde % 70 oranında görülmektedir ve literatürlerle uyumludur. Ancak diabetli bireylerde en fazla bulunan patojen değildir. Daha önceden yapılmış olan mevcut çalışmalarda bakılan patojen sayısı sınırlı olduğundan dolayı bu sonucun çıktığını düşünmekteyiz. Slots ve Ting¹⁰³ periodontal yıkım olmayan bireylerde de *P. gingivalis* bulunduğunu bildirmişlerdir. Griffen ve arkadaşları¹⁰⁶ 1998'de PCR tekniğini kullanarak yaptıkları bir çalışmada periodontal sağlıklı ve periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde *P. gingivalis* varlığını araştırmışlar. Sağlıklı bireylerle periodontitisli bireyler arasında *P. gingivalis* varlığı açısından çok anlamlı bir fark olduğunu ($p<0.001$) ve bu nedenle *P. gingivalis*'in sağlıklı dentisyonun bir elemanı olamayacağını belirtmişlerdir. Winkelhoff ve arkadaşları⁹ da 2002 yılında yaptıkları bir araştırmada sağlıklı bireylerin % 10'unda *P.gingivalis* tespit etmişlerdir. Bu oran Boutaga ve arkadaşlarının⁸⁸ çalışmasında % 9.9, Lau ve arkadaşlarının⁹⁹ çalışmasında ise % 13.3 olarak bildirilmiştir. Verilerimize göre diabetli sağlıklı ve sağlıklı bireylerin oluşturduğu her iki grupta da *P. gingivalis* % 20

oranında mevcut bulundu. Bizim çalışmamızda da sağlıklı ve periodontitisli gruplar arasında literatürlerle uyumlu olarak anlamlı fark elde edilmiştir ($p<0.001$).

Mandel ve arkadaşları¹⁰⁷ diabetli kronik periodontitisli ve nondiabetik kronik periodontitisli bireylerin subgingival floralarını karşılaştırmışlar ve bu iki grubun benzer mikrofloraya sahip olduklarını tespit etmişlerdir. İki grupta *P. gingivalis* ve *P. intermedia*'nın benzer oranlarda varlık gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda *P. gingivalis* nondiabetik kronik periodontitisli grupta diabetli kronik periodontitisli gruptan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak *P. intermedia* diabetli kronik periodontitisli ve nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde eşit miktarda (% 80 oranında) bulundu. Bu anlamda bulgularımız Mandel ve arkadaşlarının çalışma bulgularını desteklemektedir.¹⁰⁷

Zambon ve arkadaşları¹⁰⁸ kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde *P. intermedia* prevalansını % 100 oranında bulmuşlardır. Boutaga ve arkadaşları¹⁰⁰ 259 kronik periodontitisli birey ile yaptıkları benzer bir çalışmada subgingival plak örneklerinin % 83'ünde *P. intermedia* varlığı tespit etmişlerdir. Winkelhoff ve arkadaşları⁹ da kronik periodontitisli ve sağlıklı bireylerin subgingival plak örneklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında kronik periodontitisli bireylerin % 88'inde, periodontal olarak sağlıklı bireylerin ise % 69'unda *P. intermedia* bulunduğunu belirtmişlerdir. Bizim bulgularımızda ise daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak kronik periodontitisli bireylerin % 80'inde *P. intermedia* varlığı tespit edilmiştir. Ancak hem diabetli hem de diabeti olmayan periodontal olarak sağlıklı bireylerin hiçbirisinde *P. intermedia* bulunmamıştır.

Zambon ve arkadaşları¹⁰⁹ başka bir çalışmalarında *P. intermedia*'nın tip 2 diabetli bireylerin subgingival florasında en fazla bulunan mikroorganizmalardan birisi

olduğunu bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz bulgularımıza göre *P. intermedia* diabetli kronik periodontitisli bireylerde en fazla bulunan mikroorganizmalardan biriydi. Bu bulgumuz Zambon ve arkadaşlarının bulgularını desteklemektedir.

Birçok çalışmada *T. Forsythensis*'in kronik periodontitisli bireylerde periodontal olarak sağlıklı bireylerden çok daha fazla miktarda bulunduğu bildirilmiştir.^{6,9,14,41,86,88,110} Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalarda *T. Forsythensis*'in kronik periodontitisli bireylerde bulunma oranı % 46-100 arasında, periodontal olarak sağlıklı bireylerde bulunma oranı ise % 5-73 arasında olarak tespit edilmiştir.^{6,9,14,41,86,88,110} Bizim çalışmamızda da diabeti olmayan kronik periodontitisli bireylerde *T. Forsythensis*'in % 90 oranında bulunduğu görüldü. Bu bulgumuz literatürlerle uyumludur. Çalışmamızda diabeti olmayan sağlıklı bireylerde *T. Forsythensis*'in hiç bulunmadığı gözlemlendi. Diabetli kronik periodontitisli bireylerin % 80'inde, diabetli periodontal olarak sağlıklı bireylerin % 10'unda da *T. Forsythensis*'in bulunduğu tespit edildi.

Kronik periodontitisin en kuvvetli patojenlerinden birisi olan *T. denticola*'nın hastalıklı bireylerde sağlıklı bireylerden anlamlı derecede fazla bulunduğu çalışmalarda belirtilmiştir.^{50,51,53} Bizim bulgularımızda da *T. denticola* kronik periodontitisli bireylerde periodontal olarak sağlıklı bireylerden fazla bulunduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu. Yuan K ve arkadaşları²⁰ diabetli ve diabetli olmayan kronik periodontitisli bireylerde yaptıkları bir araştırmada *T. denticola*'nın varlığını da incelemişler ve *T. denticola*'nın diabeti olmayan kronik periodontitisli bireylerde % 47.5, diabeti olmayan periodontal olarak sağlıklı bireylerde % 24.8, diabetli kronik periodontitisli bireylerde % 52.4 ve diabetli sağlıklı bireylerde de % 25.7 oranında olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda *T. denticola* nondiabetik

periodontal olarak sağlıklı bireylerde hiç bulunmazken, diabetli sağlıklı bireylerde % 10, diabeti olmayan kronik periodontitisli bireylerde % 100 ve diabetli kronik periodontitisli bireylerde % 80 oranında olduğu tespit edildi. Sonuçların daha sağlıklı karşılaştırılabilmesi için diabetli bireylerle daha fazla çalışma yapılmasının gerektiğini düşünmekteyiz.

Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada moleküler teknikler kullanılmış ve *E. nodatum*'un periodontitis ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Moore ve Moore⁸⁹ *E. nodatum*'un sağlıklı ve gingivitisli bireylerde hiç bulunmadığını veya düşük miktarda bulunduğunu ancak periodontitisli bireylerde ise fazlaca bulunduğunu bildirmişlerdir. Booth ve arkadaşları¹¹¹ da *E. nodatum*'un hastalıklı bireylerde kontrol bireylerinden anlamlı oranda fazla bulunduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da literatürleri destekleyici olarak periodontal olarak sağlıklı bireylerde *E. nodatum* hiç bulunmazken, diabetli ve nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde fazla miktarda *E. nodatum* varlığı gözlemlendi. Diabeti olmayan kronik periodontitisli bireylerde *E. nodatum* varlığı diabetli kronik periodontitisli bireylerden istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulundu.

Socransky³ streptokokların oral florada bulunduğunu ve özellikle de peptostreptococcus alt türünün normal oral floranın önemli bir üyesi olduğunu söylemiştir. Buna dayanarak *P. micros*'un periodontal olarak sağlıklı bireylerde de bulunması gerektiğini söyleyebiliriz. Nitekim Haffajee ve arkadaşları⁵³ periodontal olarak sağlıklı bireylerde *P. micros*'un kronik periodontitisli bireylerden fazla bulunduğunu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir. Winkelhoff⁹ da periodontal olarak sağlıklı ve kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerini karşılaştırmış ve sağlıklılarda % 67, hastalıklılarda da % 94

oranında *P. micros* varlığını tespit etmişlerdir. Boutaga ve arkadaşları¹⁰⁰ da 2005 yılında kronik periodontitisli bireylerden aldıkları 259 subgingival plak örneğinde *P. micros* varlığının % 97 oranında olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise şaşırtıcı olarak *P. micros* periodontal olarak sağlıklı bireylerde hiç bulunmazken, diabetli periodontal olarak sağlıklı bireylerde % 70 oranında bulundu. Diabetli kronik periodontitisli bireylerde % 80, nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde ise % 70 oranında tespit edildi. *P. micros*'un diabetli bireylerle daha önceden yapılan herhangi bir araştırması bulunmamaktadır. Bu nedenle bulgularımız diğer patojen mikroorganizmalara göre dağılım yansıtmak ve onlarla mukayese edilebilmesi için verilmiş olup literatürler ışığında geniş olarak tartışılmamıştır.

Bir diğer patojen olan *C. rectus* birçok araştırmacı tarafından kronik periodontitisli bireylerde çalışılmış olup kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde % 17-30 arasında dağılım gösterdiği belirtilmiştir.^{9,86,89} Bulgularımıza göre ise *C. rectus*'un nondiabetik kronik periodontitisli bireylerin hepsinde bulunduğu görüldü. Winkelhoff⁹ ve Haffajee⁵³ periodontal olarak sağlıklı bireylerde de bu mikroorganizmanın olduğunu ancak kronik periodontitisli bireylerle arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda hem tip 2 diabetli hem nondiabetik periodontal sağlıklı bireylerde *C. rectus*'un hiçbir bireyde bulunmadığı görüldü. Çalışmaların farklı coğrafik bölgelerde yaşayan bireylerde yapılmasının ve kullanılan tekniklerin sonuçlarımızın literatürlerden farklı çıkması ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Nitekim farklı popülasyonlarla yapılan çalışmalarda mikroorganizma dağılımının popülasyonlar arasında değişkenlik gösterdiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır.^{82,86,100}

Zambon ve arkadaşları¹⁰¹ 1988 yılında yaptıkları çalışmalarında tip 2 diabetli bireylerdeki subgingival dental plakta en fazla *P. intermedia*, *P. Gingivalis* ve *C. rectus* bulunduğunu gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da *C. rectus* diabetli kronik periodontitisli bireylerde % 60 oranı ile en fazla bulunan üçüncü mikroorganizma olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda incelediğimiz mikroorganizmalardan biri olan *F. nucleatum* başka araştırmacılar tarafından incelendiği çalışmalarda kronik periodontitisli bireylerde % 79-98 arasında dağılım gösterdiği bulunmuştur.^{9,14,88,89,98} Çalışmamızda literatürlere yakın olarak nondiabetik kronik periodontitisli bireylerin tamamında bulundu. Winkelhoff ve arkadaşları⁹ *F. nucleatum*'un kronik periodontitisli bireylerden fazla bulunduğunu ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Bu görüşte olan farklı araştırmacılar da bulunmaktadır.⁸⁸ Bizim çalışmamızda da nondiabetik sağlıklı bireylerde *F. nucleatum* % 90 oranında mevcuttu ve hastalıklı bireylerle anlamlı bir fark göstermedi. Tervonen ve arkadaşları¹⁰ diabetli bireylerle yaptıkları bir çalışmalarında tip 2 diabetli kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde en fazla *P. gingivalis*'in bulunduğunu ve bu mikroorganizmayı *F. nucleatum*'un izlediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da *F. nucleatum* tip 2 diabetli kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde en fazla bulunan 2. mikroorganizmalar arasındadır. Çalışmamızda da diabetli periodontal olarak sağlıklı bireylerin hepsinde *F. nucleatum* tespit edildi.

Haffajee ve arkadaşları⁵³ *E. corrodens*'in kronik periodontitisli bireylerde sağlıklılarından fazla bulunduğunu ancak farkın anlamlı olmadığını belirtmişlerdir. Yuan K ve arkadaşları²⁰ da diabetli ve nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde yaptıkları çalışmada hastalıklı bireylerde fazla olduğunu fakat sağlıklılarla fazla fark olmadığını

bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da kronik periodontitisli bireylerde % 60, periodontal olarak sağlıklı bireylerde % 50 oranında gözlendi. Bulgularımız literatürlerle uyumludur. Diabetli bireylerde *E. corrodens*'in incelendiği tek bir çalışmada diabetli bireylerin % 71'inde diabetli periodontal olarak sağlıklı bireylerin de % 66'sında *E. corrodens* varlığı bildirilmiştir.²⁰ Çalışmamızda diabetli kronik periodontitisli bireylerin %40'ında diabetli periodontal olarak sağlıklı bireylerin ise tamamında *E. corrodens*'in bulunduğu gözlendi.

Capnocytophaga türlerinin periodontal patojen olduğu çalışmalarda bildirilmiştir.^{51,89,112} Ancak yaptığımız literatür taramalarında günümüze kadar hem kronik periodontitis hem de diabetli bireylerde bu mikroorganizmanın dağılımı ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmadı. Çalışmamızda *Capnocytophaga* türlerinin diabetli kronik periodontitisli grupta % 70, nondiabetik kronik periodontitisli grupta % 60, diabetli periodontal olarak sağlıklı grupta % 100 ve nondiabetik periodontal olarak sağlıklı grupta % 70 oranında bulunduğu tespit edildi. Bizim sonuçlarımıza göre *Capnocytophaga* türleri hem diabetli hem de nondiabetik periodontal olarak sağlıklı bireylerde diabetli ve nondiabetik kronik periodontitisli bireylerden daha fazla bulundu.

Bir bakteri türünün periodontal patojen olarak tanımlanabilmesi için periodontitisli bireylerin çoğusunda ve periodontal yıkım olmayan bireylerde de nadir de olsa bulunması gerekmektedir.⁹ Periodontal patojenlerin periodontal sağlıklı bireylerde de bulunduğu bildirilmiştir. Nitekim Winkelhoff yaptığı araştırma neticesinde periodontal patojenler olan *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *F. nucleatum* ve *P. micros*'un kontrol grubundaki bireylerde de bulunduğunu bildirmiştir.⁹ Bizim çalışmamızda da *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* ve *F. nucleatum* hem diabetli hem nondiabetik periodontal olarak sağlıklı

bireylerde bulundu. *P. micros* diabetli periodontal olarak sağlıklı bireylerde mevcutken nondiabetli periodontal olarak sağlıklı bireylerde hiç bulunmadı. *P. intermedia* ise her iki periodontal sağlıklı grupta da bulunmadı.

Yuan K ve arkadaşları 2001 yılında 105 tip 2 diabetli 141 nondiabetik toplam 246 bireyle yaptıkları çalışmada PCR ile subgingival plakta 5 putativ periodontal patojeni incelemişlerdir. *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *E. corrodens*, *T. denticola* ve *Candida albicans* varlığını diabetli ve nondiabetli bireyler arasında karşılaştırmış ve sonuçta anlamlı bir fark bulmadıklarını bildirmişlerdir.²⁰ Benzer yöntemleri kullandığımız bu çalışmada farklı olarak 11 periodontal patojen incelenerek Yuan K ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışma genişletilerek literatüre katkı sağlanmıştır.

9. SONUÇLAR

- 1- Diabetli ve kronik periodontitisli bireylerin GI ve PI değerleri nondiabetik ve kronik periodontitisli bireylerin indeks değerlerinden daha fazla bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).
- 2- Kronik periodontitisli diabetli bireylerin SD ve KAS değerleri kronik periodontitisli nondiabetik bireylerin SD ve KAS değerlerinden fazla bulundu. Farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).
- 3- Kronik periodontitisli nondiabetik bireylerin GI, PI, SD ve KAS değerleri ile periodontal olarak sağlıklı nondiabetik bireylerin GI, PI, SD ve KAS değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$).
- 4- PCR yöntemi ile incelemeye aldığımız bakteri türleri periodontitisli bireylerin çoğunda ve periodontal yıkım olmayan bireylerde de belli oranlarda gözlemlendi. Bu özellikleriyle değerlendirmeye alınan tüm mikroorganizmalar periodontal patojen mikroorganizmalardır.
- 5- Diabetli kronik periodontitisli bireylerde en fazla bulunan mikroorganizmalar; gram (-) zorunlu anaerob çubuklar (% 80 oranında *P.intermedia*, *T.forsythensis*), gram (+) zorunlu anaerob koklar (% 80 oranında *P.micros*) ve spiroketler (% 80 oranında *T.denticola*) olarak tespit edildi.
- 6- Nondiabetik kronik periodontitisli bireylerde gram (-) zorunlu anaerob çubuklardan *P.gingivalis* ve *F.nucleatum* % 100, gram (-) fakültatif anaeroblardan *C.rectus* % 100 ve spiroketlerden *T.denticola* % 100 oranında bulundu.

- 7- *P.gingivalis*, *F.nucleatum*, *E.nodatum* ve *C.rectus* nondiyabetik kronik periodontitisli bireylerde diyabetli kronik periodontitisli bireylerden fazla bulundu. Mikroorganizmaların oranları arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$), ($p<0.01$).
- 8- Periodontal olarak sağlıklı bireylerde incelenen 11 periodontal patojen mikroorganizmadan 7'si (*Aa*, *T.forsythensis*, *T.denticola*, *P.micros*, *F.nucleatum*, *E.corrodens* ve *C.spec*) diyabetli grupta, nondiyabetli gruptan daha fazla sayıda bulundu. Bu farklılık *P.micros*, *E.corrodens* ve *Capnocytophaga* türleri için istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$), ($p<0.05$).
- 9- Araştırmamızda ilk kez çalışılan gram (-) fakültatif anaerob çubuk olan *Capnocytophaga* türleri diyabetli kronik periodontitislilerde % 70, nondiyabetik kronik periodontitislilerde % 60, diyabetli ve periodontal olarak sağlıklı bireylerde % 100, nondiyabetik periodontal olarak sağlıklı bireylerde % 70 oranında tespit edildi.

10. KAYNAKLAR

- 1- Flemming TF. Periodontitis. Ann Periodontol 1994; 4: 32-37.
- 2- Position Paper. Diabetes and periodontal disease. J Periodontol 2000; 71: 664-678.
- 3- Socransky S.S, Haffajee A.D. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. Periodontology 2000 2002,28,12-55.
- 4- Sakamoto M, Umeda M, Benno Y. Molecular analysis of human oral microbiota. J Periodont Res 2005; 40: 277-285.
- 5- Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, Silva A. Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques. J Clin Periodontol 2004; 31: 1034-1047.
- 6- Eick S, Pfister W. Comparison of microbial cultivation and a commercial PCR based method for detection of periodontopathogenic species in subgingival plaque samples. J Clin Periodontol 2002; 29: 638-644.
- 7- Marakoğlu İ, Özdemir H. Periodontopatojenler. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi dergisi 2004; 7(2).
- 8- Smola SF, Rettenberger G, Simmet Th, Burysek L. Comparison of sample collection methods for the PCR detection of oral anaerobic pathogens. Letters in Applied Microbiology 2003; 36: 101-105.
- 9- Van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. J Clin Periodontol 2002; 29: 1023-1028.

- 10- Tervonen T, Oliver RC, Wolff LF, Bereuter J, Anderson LA, Aepli DM. Prevalance of periodontal pathogens with varying metabolic control of diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 375-379.
- 11- Nonnenmacher C, Mutters R, Flores de Jacoby L. Microbiological characteristics of subgingival microbiota in adult periodontitis, localise juvenil periodontitis, rapidly progressive periodontitis. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 213-217.
- 12- Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology* 2000 2004; 36: 14-26.
- 13- Van Winkelhoff AJ, Winkel EG. Microbiological diagnostics in periodontics: Biological significance and clinical validity. *Periodontology* 2000 2005; 39. 40-52.
- 14- Jervoe-Storm P-M, Koltzsch m, falk w, Dörfler A, Jepsen S. Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of 5 putative periodontopathogenic bacteria. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 778-783.
- 15- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4: 1-6.
- 16- Position Paper. Diabetes and periodontal disease. *J Periodontol* 2000; 71: 664-678.
- 17- Bjelland S, Bray P, Gupta N, Hirsch R. Dentists, diabetes and periodontitis. *Australian Dental Journal* 2002; 47(3): 202-207.
- 18- Persson RE, Hollender LG, MacEntee MI, Wyatt CCL, Kiyak HA, Persson GR. Assessment of periodontal conditions and systemic disease in older subjects. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 207-213.
- 19- Ryan ME, Carnu O, Kamer A. The influence of diabetes on the periodontal tissues. *JADA* 2003; 134: 35-41.

- 20- Yuan K, Chang C-J, Hsu P-c, Sun HS, Tseng C-C, Wang J-R. Detection of putative periodontal pathogens in NIDDM and non-diabetes mellitus by PCR. *J Periodont Res* 2001; 36: 18-24.
- 21- Kinane DF. Periodontitis modified by systemic factors. *Ann Periodontol* 1999; 4: 54-63.
- 22- Lamster IB, Lalla E. Periodontal disease and Diabetes mellitus: Discussion, Conclusion and Recommendations. *Ann Periodontol* 2001; 6: 146-149.
- 23- Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases. *Ann Periodontol* 2001; 6: 99-112.
- 24- Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: An overview. *Ann Periodontol* 2001; 6: 91-98.
- 25- Kinane DF, Peterson M, Stathopoulou PG. Environmental and other modifying factors of the periodontal disease. *Periodontology* 2000 2006; 40: 107-119.
- 26- Löe H, Genco RJ. Oral complications in diabetes.
- 27- Matthews DC. The relationship between diabetes and periodontal disease. *J Can Dent Assoc* 2002; 6(3): 161-164.
- 28- Rees TD. Periodontal management of the patient with diabetes mellitus. *Periodontology* 2000 2000; 23: 63-72.
- 29- Southerland JH, Taylor GW, Moss K, Beck JD, Offenbacher S. Commonality in chronic inflammatory diseases: periodontitis, diabetes and coronary artery diseases. *Periodontology* 2000 2006; 40: 130-143.
- 30- Jansson H, Lindholm E, Lindh C, Groop L, Bratthall G. Type 2 diabetes and risk for periodontal disease: a role for dental health awareness. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 408-414.

- 31- Matthews DC. The two way relationship between diabetes and periodontal diseases. Canadian Dental Association 2002; 68(3): 161-164.
- 32- Manfredi M, McCullough MJ, Vescovi P, Al-Kaarawi ZM, Porter SR. Update on diabetes mellitus and related oral diseases. Oral Diseases 2004; 10: 187-200.
- 33- Nunn M.E. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. Periodontology 2000 2003, 32, 11-23.
- 34- Jasim M. Albandar. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. Periodontology 2000, Vol. 29, 2002, 177–206.
- 35- Genco R.J. Risk factors for periodontal disease. In Rose LF, Genco RJ, Cohen W, Mealey BL. Periodontal Medicine. Hamilton: Decker BC, 2000: 11-33.
- 36- Nassar H, Kantarcı A, Duke TE. Diabetic periodontitis: a model for activated innate immunity and impaired resolution of inflammation. Periodontology 2000, 2007;43: 233-244.
- 37- Orbak R, Tezel A, Çanakçı V, Demir T. The influence of smoking and NIDDM on periodontal disease. The Journal of Int Med Res 2002; 30: 116-125.
- 38- Ship JA. Diabetes and oral health. JADA 2003; 134: 4-10.
- 39- Van Winkelhoff AJ. Microbiology in diagnosis and treatment planning in periodontitis. Int J Dent Hygiene 1, 2003; 131-137.
- 40- Morikawa M, Chiba T, Tomii N, Sato S. Comparative analysis of putative periodontopathic bacteria by multiplex PCR. J Periodont Res 2007.
- 41- Riggio MP, Lennon A, Roy KM. Detection of Prevotella intermedia in subgingival plaque of adult periodontitis patients by PCR. J Periodontol Res 1998; 33: 369-376 .

- 42- In Newman, Takei, Carranza. Carranza's Clinical Periodontology. Philadelphia: Saunders WB, 2002: 398-402.
- 43- In Lindhe J, Karring T, Lang NP. Clinical periodontology and implant dentistry. Oxford. 2003: 209-214.
- 44- Bascones-Martinez A, Figuero-Ruiz E. Periodontal diseases as bacterial infection. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2004; 9: 101-107.
- 45- Grossi SG. Treatment of periodontal disease and control of diabetes mellitus. Ann Periodontol 2001; 6: 138-145.
- 46- Lalla E, Lamster IB, Stern DM, Schmidt AM. Receptor for advanced glycation end products, inflammation and accelerated periodontal disease in diabetes. Ann Periodontol 2001; 6: 113-118.
- 47- Fenesy KE. Periodontal disease: An overview for physicians. M S Journal 1998; 65: 362-369.
- 48- Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supragingival and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. J Clin Periodontol 2000; 27: 722-732.
- 49- Stanley C. Holt & Jeffrey L. Ebersole. Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. Periodontology 2000, Vol. 38, 2005, 72-122.
- 50- Ezzo P.J, Cutler C.W. Microorganism as risk indicators for periodontal disease. Periodontology 2000 2003,32, 24-35.
- 51- Socransky S.S, Haffajee A.D. Periodontal microbial ecology. Periodontology 2000 2005,38,135-187.

- 52- Wolf HF, Edith M, Rateitschok KH. Diş hekimliğinin renkli atlası 1. Ankara. Palme Yayınevi. 2007.
- 53- Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. Association of *Eubacterium nodatum* and *Treponema denticola* with human periodontitis lesions. *Oral Microbiology Immunology* 2006; 21: 269-282.
- 54- Torun ÖY. Yetişkin periodontitisli hastalarda etken bakterilerin PCR ile tanısı. KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek lisans tezi. Trabzon. 1999.
- 55- Hill GB, Ayers OM, Kohan AP. Characteristics and sites of infection of *E. Nodatum*, *E. Timidum*, *E. Brachy* and other asaccharolytic eubacteria. *J Clin Microbiol* 1987; 25(8): 1540-45.
- 56- Lalla E. Periodontal infections and DM: when will the puzzle be complete? *J Clin Periodontol* 2007; 34: 913-916.
- 57- Ohishi K, Yamamoto M, Tomofuji T. Isolation and characterization of aminopeptidase from *Capnocytophaga granulosa* ATCC 51502 2005; 20: 67-72.
- 58- Bayındır Y. Dental infeksiyonlarda doğru antibiyotik kullanımı. İnönü Üniv. Tıp Fak. Dergisi 2003; 10: 213-216.
- 59- Cianter M, Sprutt DA, Newman MN, Wilson M. *Capnocytophaga granulosa* and *Capnocytophaga haemolytica*: novel species in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 701-705.
- 60- Donahue RP, Wu T. Insulin resistance and periodontal disease: An epidemiologic overview of research needs and future. *Ann Periodontol* 2001; 6: 119-124.
- 61- Iacopino AM. Periodontitis and diabetes interrelationships role of inflammation. *Ann Periodontol* 2001; 6: 125-137.

- 62- Diabetes mellitus on update for healthcare professionals. British Medical Association February 2004.
- 63- Definition, diagnosis and classification of Diabetes mellitus and HS complications. Report of a WHO Consultations 1999.
- 64- The American association of clinical endocrinologists medical guidelines for the management of Diabetes Mellitus: The AACE system of intensive diabetes self management 2002 update. Endocrine Practice 2002;8.
- 65- Mealey B. Diabetes mellitus. In Rose LF, Genco RJ, Cohen W, Mealey BL. Periodontal Medicine. Hamilton: Decker BC, 2000: 121-150.
- 66- Harthroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. Oral Microbiol Immunol 1999; 14: 326-330.
- 67- Graves DT, Liu R, Oates TW. Diabetes enhanced inflammation and apoptosis impact on periodontal pathosis. Periodontol 2000 2007; 45: 128-37.
- 68- Southerland JH, Taylor GW. Diabetes and periodontal infection: making the connection. Clinical Diabetes 2005; 23(4): 171-178.
- 69- Beikler T, Kuczek A, Petersilka G, Flemming TF. In dental office screening for diabetes mellitus using gingival crevicular blood. J Clin Periodontol 2002; 29: 216-218.
- 70- Lalla E, Lamster IB, Drury S, Fu C, Schmidt AM. Hyperglycemia, glycoxidation and RAGE. Periodontology 2000 2000; 23: 50-62.
- 71- Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M. Glycemic control and alveolar bone loss progression in type 2 diabetes. Ann Periodontol 1998; 3(1): 30-39.

- 72- Taylor GW, Burt BA, Becker MP, et al. Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years. *J Periodontol* 1998; 69(1): 76-83.
- 73- Schmidt A, Weidman E, Lall E, et al. Advanced glycation end products (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J Periodontol Res* 1996; 31: 508-515.
- 74- Cutler CW, Machen RL, Jotwani R, Iacopino AM. Heightened gingival inflammation and attachment loss in type 2 diabetes with hyperlipidemia. *J Periodontol* 1999; 71: 1313-1321.
- 75- Conrads G. DNA probes and primers in dental practice. *Clinical Infectious Diseases* 2002; 35(1): 72-77.
- 76- Santos CF, Sakai VT, Machado MA, Schippers DN, Greene AS. Reverse transcription and polymerase chain reaction: Principles and applications in dentistry. *J Appl Oral Sci* 2004; 12(1): 1-11.
- 77- Jansson H, Lindholm E, Lindh C, Groop L, Bratthall G. Type 2 diabetes and risk for periodontal disease: a role for dental health awareness. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 408-414.
- 78- Jordan RCK, Daniels TE, Greenspan JZ, Regezi JA. Advanced diagnostic methods in oral and maxillofacial pathology. Part I: molecular methods. *Oral maxillofac Pathol* 2001 Dec; 92(6): 650-69.
- 79- Jordan RCK, Daniels TE, Donoff RB, Wong DTW, Todd R. The gene: the polymerase chain reaction and its clinical application. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 808-815.
- 80- Silness J, L  e H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121-134.

- 81- L  e H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalance and severity. *Acya Odontol Scand* 1963; 21: 533-551.
- 82- Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez NJ, Socransky SS. Subgingival microbiata of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 996-1002.
- 83- Feng Z, Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissue. *Periodontology* 2000 2006; 40: 50-76.
- 84- Doungudomdacha S, Rawlinson A, Walsh TF, Douglas CWI. Effect of non-surgical periodontal treatment on clinical parameters. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 437-445.
- 85- Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra ad subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 648-657.
- 86- Cartelli JR., Cartelli SC, Jordan S, Zambon. Prevalance of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 2005; 32: 860-866.
- 87- Darveau RP, Taner A, Page R. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontology* 2000 1997; 14: 12-32.
- 88- Boutaga K, von Winkelhoff AJ, Vanderbroucke G, Savelkoul PHM. The additional value of real-time PCR in the quantitative detection of periodontal pathogens. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 427-433.
- 89- Moore W.E.C, Moore L.W.H. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology* 2000,vol5, 1994,66-77.
- 90- Bartold PM. Periodontal tissues in health and disease. *Periodontology* 2000 2006; 40: 7-10.

- 91- Doğru AG, Sarıbaş EE, Doğru M. Tip I ve tip II diabetes mellitus hastalarında dişeti cep sıvısı beta-glukuronidaz enzim seviyesinin incelenmesi. Dicle Tıp Dergisi 2003; 30:54-60.
- 92- Roscher T, Rösing CK, Gjermo P, Aas AM. Effects of instruction and motivation in the use of electric and manuel totthbrushes in periodontal patients. Braz Oral Res 2004; 18: 296-300.
- 93- Derdilopoulou FV, Nonhoff J, Neumann K, Kielbassa AM. Microbiological findings after periodontal therapy using cures, Er: YAG laser, sonic and ultrasonic scalers. J Clin Periodontol 2007; 34: 588-598.
- 94- Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, et al. Assessment of risk for periodontal disease. Risk indicators for attachment loss. J Periodontol 1994; 65: 260-267.
- 95- Dolan TA, Gilbert GH, Ringelberg ML, et al. Behavioral risk indicators of attachment loss in adult Floridians. J Clin Periodontol 1997; 24: 223-232.
- 96- Shlossman M, Knowler WC, Pettit DJ, Genco RJ. Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. J Am Dent Assoc 1990; 121: 532-536.
- 97- Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. Diabetes Care 1993; 16: 329–334.
- 98- Harthroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evalution of basic parameters. Oral Microbiol Immunol 1999; 14: 326-330.
- 99- Lau L, Sons M, Herrera D. Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: A comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *tannerelle forsythensis* in subgingival plaque samples. J Clin Periodontol 2004, 31: 1061-1069.

- 100- Boutaga K, Winkelhoff J. Periodontal pathogens: A quantitative comparison of anaerobic culture and real-time PCR. *FEMSv immunology and Medical Microbiology* 2005; 45:191-199.
- 101- Zambon JJ, Reynolds H, Fisher JG, Shlossman M, Dunford R, Genco R. Microbiological and immunological studies of adult periodontitis in patients with non insulin dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1988; 59: 23-31.
- 102- Holt SC, Kesavelu L, Walker S, genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology* 2000 1999; 20: 168-238.
- 103- Slots J, Ting M. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. *Periodontology* 2000 20:82-121.
- 104- Socransky SS, Haffajee AD, Ximenez-Fyvie LA, Fenes M, Mager D. Ecological considerations in the treatment of periodontal infections. *Periodontology* 2000 1999; 20: 341-362.
- 105- Thorstensson H, Dahlen G, Hugoson A. Some suspected periodontopathogens and serum antibody response in adult long-duration insulin dependent diabetics. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 449-458.
- 106- Griffen AL, Becker MR, Lyons SR, Moeschberger ML, Leys E. Prevalance of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3239-3242.
- 107- Mandell RL, DiRienzo J, Kent R, Joshipura K, Haber J. Microbiology of healthy and diseased periodontal sites in poorly controlled insulin-dependent diabetics. *J Periodontol* 1992; 63: 273-279.

- 108- Christersson LA, Fransson CL, Dunford RG, Zambon JJ. Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis. *J Periodontol* 1992; 63: 418-425.
- 109- Zambon JJ. Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol* 1996; 1: 879-925.
- 110- Lau L, Sons M, Herrera D. Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: A comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 2004, 31: 1061-1069.
- 111- Booth V, Downes J, Van den Ber J, Wade WG. Gram-positive anaerobic bacilli in human periodontal disease. *J Periodontol Res* 2004; 39: 213-220.
- 112- Oliver RC, Brown LJ, Loe H. Periodontal disease in the US population. *J Periodontal disease* 1998; 69(2):269-278.

11. EKLER

Ek 1

Tarih:

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Diabetes Mellitus (şeker hastalığı) hastaları ve kronik periodontitis (kemik kaybının da izlendiği dişin destek dokularının iltihabi hastalığı) hastaları ile ilgili yaptığımız bir çalışmada, diabet ve periodontal hastalık ilişkisini biraz daha aydınlatmayı amaçlayarak, diabetin periodontal hastalık oluşmasına olan etkisini inceliyoruz.

Çalışmayı kabul eden hastalarımızdan, tedavi için bize geldikleri ilk seansta diş ile dişeti arasına kağıt rulolar yerleştirerek 20 saniye beklemek sureti ile plak örneği alıyoruz. Yaptığımız işlem hastaya hiçbir rahatsızlık ve ağrı vermemektedir.

İşlem bir defaya mahsus olarak yapılacaktır. Araştırmaya katılmak tamamen hastamızın kendi rızası ile olacak ve hastaya bir yükümlülük getirmeyecektir.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesini gereken metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon no, faks no):

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya velisinin

Adı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon no, faks no):

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı :

İmzası:

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı:

İmzası:

Görevi: