

**KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA
METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GENİ
677 C→T VE 1298 A →C POLİMORFİZMLERİNİN
İNCELENMESİ**

Dt. Gülhan ÜNAL KOCAMAN

Periodontoloji Anabilim Dalı

**Tez danışmanı
Prof. Dr. Recep ORBAK**

Doktora Tezi - 2012

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA
METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GENİ
677C→T VE 1298A →C POLİMORFİZMLERİNİN
İNCELENMESİ**

Dt. Gülhan ÜNAL KOCAMAN

**Periodontoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Recep ORBAK**

**ERZURUM
2012**

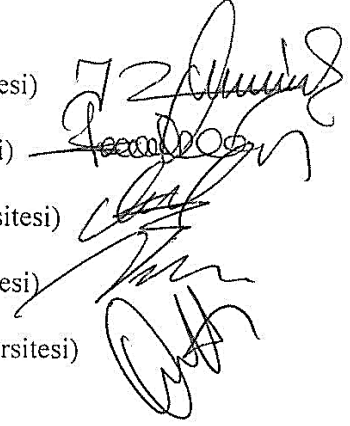
T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA
METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GENİ 677 C→T VE
1298 A →C POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

Dt. Gülhan ÜNAL KOCAMAN

Tez Savunma Tarihi: 29.05.2012

Tez Danışmanı :Prof. Dr Recep ORBAK (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi :Prof. Dr. Gönen ÖZCAN (Gazi Üniversitesi)
Jüri Üyesi :Prof. Dr. Varol ÇANAKÇI (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Turgut DEMİR (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi :Doç. Dr. Abdulgani TATAR (Atatürk Üniversitesi)



Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Doktora Tezi
ERZURUM-2012

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periodontal Hastalık.....	4
2.1.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması	5
2.1.2. Periodontal Hastalık Patogenezi	8
2.1.3. Periodontal Hastalığın Risk ve Risk Faktörleri	11
2.1.4. Periodontal Hastalıkta Genetik Faktörler	12
2.2. Genetik Polimorfizm Kavramı.....	13
2.3 Folat Metabolizması	14
2.3.1. Metilentetrahidrofolat Redüktaz Enzimi	14
2.3.2. Homosistein	15
3. MATERYAL VE METOT	18
3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi ve Klinik Değerlendirme.....	18
3.2. Gereçler.....	21
3.3. Çalışma Yöntemleri	23
3.3.1. Kan Örneklerinin Toplanması	23
3.3.2. Kandan DNA İzolasyonu.....	23

3.3.3. Moleküler Çalışma Basamakları	23
3.3.3.1. PCR.....	23
3.3.3.2. Agaroz Jel Hazırlanması	24
3.3.3.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jele Yüklenmesi.....	25
3.3.3.4. RFLP Analizi	25
3.4. İstatistiksel Analizler	27
4. BULGULAR	28
4.1. Klinik Bulgular	28
4.2. Laboratuvar Bulgular.....	29
4.2.1. PCR Bulguları	30
4.2.2. RFLP Analizi Bulguları.....	30
4.2.2.1. MTHFR 677C→T Polimorfizimi	30
4.2.2.2. MTHFR 1298 A→C Polimorfizimi	32
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
KAYNAKLAR	42
EKLER	57
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	57
EK-2. KLİNİK PARAMETRE DEĞERLENDİRME FORMU	58
EK-3. BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU	59

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında desteğini esirgemeyen ve çalışmalarımı yönlendiren çok kıymetli hocam Sayın Prof.Dr. Recep ORBAK'a, tez konumun belirlenmesinde bana yardımcı olan Sayın hocam Prof.Dr. Adnan TEZEL'e, bölüm imkanlarından faydalanmamı sağlayan Bölüm Başkanım Sayın Prof.Dr Varol ÇANAKÇI'ya, tez çalışmam süresince Tıbbi Genetik A.D laboratuvar imkanlarından faydalanmamı sağlayan hocam Sayın Doç.Dr Abdulgani TATAR'a, tezimin yön verilmesinde fikir ve önerilerinden faydalandığım jüri hocam Sayın Doç.Dr Turgut DEMİR'e, doktoram boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım tüm bölüm hocalarıma, bu çalışmayı 2009/325 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, ayrıca tezimde emeği geçen Periodontoloji A.D ve Tıbbi Genetik A.D'nda görev yapan asistan arkadaşlarım ve bölüm personeline teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmalarımnda beni maddi manevi destekleyen hayat arkadaşım Dr.Ayhan KOCAMAN'a, sabrından dolayı moral kaynağım kızım Melda Duru'ya ve aileme teşekkür ederim.

Gülhan ÜNAL KOCAMAN

ÖZET

Kronik Periodontitisli Hastalarda Metilentetrahidrofolat Redüktaz Geni 677C→T ve 1298A→C Polimorfizmlerinin İncelenmesi

Amaç. MTHFR geninde 677C→T ve 1298A→C gen polimorfizmlerine ait genotiplendirmenin, Türk bireylerde kronik periodontitise yatkınlığı ve hastalığın ilerlemesini gösterecek bir parametre olup olmadığını belirlemektir.

Materyal Metod. 49 kronik periodontitisli ve 40 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. Bireylerin periodontal sağlık durumu, CD, KAS, Pİ ve Kİ ölçümleri ile değerlendirildi ve medikal hikayeleri alındı. Laboratuvar bulgularını değerlendirme kapsamında, çalışma ve kontrol gruplarına ait kan örnekleri alınarak DNA izolasyonu yapıldı. Bu kapsamda MTHFR geninde 677C→T ve 1298A→C gen bölgesinde bulunan TNP, PCR amplifikasyonlarını takiben restriksiyon endonükleaz enzimleri ile RFLP analizi yapılarak belirlendi. Gruplar arasında, periodontal klinik parametreleri ANOVA ve LSD karşılaştırma testi ile laboratuvar bulgular ise Pearson χ^2 testi ile değerlendirildi.

Bulgular. Araştırmamızda çalışma ve kontrol grupları arasında yaş hariç tüm klinik parametreler önemli oranda farklı bulundu ($p<0,001$). Çalışmaya dahil edilen 49 kronik periodontitis hastada MTHFR' nin 677CC (yabanıl tip) 34 kişi (%69,4), 677CT (heterozigot) 12 kişi (%24,5), 677TT (homozigot) 3 kişi (%6,1), kontrol grubunda ise 677CC 28 kişi (%70), 677CT 7 kişi (%17,5), 677TT 5 kişi(%12,5) olarak tespit edildi. MTHFR 1298AA, 1298AC ve 1298CC genotipinin dağılımı ise kronik periodontitisli hastalarda 1298AA 18 kişi (%36,7), 1298AC 27 kişi (%55,1) ve 1298CC 4 kişi (%8,2)'dir. Kontrol grubunda ise 1298AA 14 kişi (%35), 1298AC 21 kişi (%52,5) ve 1298CC 5 kişi (%12,5) bulunmuştur. 677C→T ve 1298A→C bölgelerinde bulunan polimorfizmler gruplar arasında farklılık göstermedi ($p>0,05$).

Sonuç. Çalışmamızda incelemeye alınan kronik periodontitsli Türk bireylerde, periodontal hastalığa yatkınlığı veya ilerlemesini belirlemede MTHFR geninde 677C→T ve 1298A→C polimorfizmler tek başına yeterli bir parametre olmadığı düşünülmektedir. Bu bağlamda ileriye dönük çalışmalar artırılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Metilentetrahidrofolatredüktaz, MTHFR, Periodontitis, Polimorfizm.

ABSTRACT

The Investigation of Methylenetetrahydrofolate Reductase 677 C→T and 1298 A→G Polymorphisms in Patients with Chronic Periodontitis.

Aim. The purpose of this study is to evaluate whether a suitable parameter to determine the predisposition or prognosis of chronic periodontitis of MTHFR gene 677C→T and 1298A→C gene polymorphisms among CP patients and C in Turkish population.

Material and Method. 49 patients with chronic periodontitis and 40 healthy person participated in the study. Following medical and periodontal histories, and recording of PD, CAL, PI and BI were taken. To assessment laboratory findings were obtained isolation of DNA from blood samples from the participants. Single nucleotide polymorphisms at gene MTHFR gene's 677C→T and 1298A→C analysed by PCR and RFLP assay. The difference regarding clinical parameters between groups were evaluated with ANOVA and the differences 677C→T and 1298A→C genotyping between groups were detected using Pearson χ^2 test.

Results. All of the clinical parameters were significantly higher in the patient (CP) groups than the control group ($p < 0,001$). However, no differences in clinical parameters were found between the CP groups. Included in the study 49 patients with CP MTHFR 677C→T polymorphism genotyping distribution was detected 677CC (wild type) 34 subjects (%69,4), 677CT (heterozygote) 12 subjects (%24,5), 677TT (homozygous) 3 subjects (%6,1) and in the C group 677CC 28 subjects (%70), 677CT 7 subjects (%17,5), 677TT 5 subjects (%12,5). Patient with chronic periodontitis MTHFR A1298C polymorphism genotyping distribution was found 1298AA 18 subjects (%36,7), 1298AC 27 subjects (%55,1) and 1298CC 4 subjects (%8,2) and C groups 1298AA 14

subjects (%35), 1298AC 21 subjects (%52,5), 1298CC 5 subjects (%12,5). There were no differences between CP and C groups in genotype analysis in MTHFR gene's 677C→T ve 1298A→C ($p>0,05$).

Conclusion. MTHFR gene 677C→T and 1298A→C is not suitable a parameter to determine the predispositon or prognosis of periodontitis in Turkish population with chronic periodontitis.

Key words: Methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR, Periodontitis, Polymorphisms.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	:Adenin
BI	:Bledding index
C	:Sitozin
CAL	:Clinical attachment level
CD	:Cep derinliği
DNA	:Deoksiribonükleik asit
Gİ	:Gingival indeks
G	:Guanin
IL	:İnterlökin
K	:Kontrol grubu
KAS	:Klinik ataçman seviyesi
Kİ	:Kanama indeksi
KPG	:Kronik periodontitis grubu
LPS	:Lipopolisakkarit
MMP	:Matriks metalloproteinaz
MTHFR	:Metilentetrahidrofolat redüktaz
PCR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
PD	:Periodontal depth
PG	:Prostoglandin
PI	:Plak index
Pİ	:Plak indeksi
PSG	:Periodontal sağlık grubu
RFLP	:Restriction fragment length polymorphism

SD	:Sondalanabilir cep derinliği
T	:Timin
TNF	:Tümör nekrozis faktör
TNP	:Tek nükleotid polimorfizmleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 4.1.** MTHFR 677C→T ve 1298A→C bölgelerinin PCR ürünlerinin %2'lik agoroz jel görüntüsü 30
- Şekil 4.2.** MTHFR 677C→T bölgesinin Hinf I restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonrası %2'lik agoroz jel görüntüsü 31
- Şekil 4.3.** MTHFR 1298 A→C bölgesinin MboII restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonrası %2'lik agoroz jel görüntüsü 32

TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1. MTHFR677C→T, MTHFR1298A→C, polimorfizmleri için kullanılan primer dizileri	23
Tablo 4.2. Gruplar arası klinik parametrelerin karşılaştırılması	29
Tablo 4.3. MTHFR 677C→T Polimorfiziminin çalışma ve kontrol gruplarının karşılaştırılması	31
Tablo 4.4. MTHFR 1298A→C polimorfiziminin çalışma ve kontrol gruplarının karşılaştırılması	33

1. GİRİŞ

Periodontitis, dişeti, periodontal ligament, sement ve alveolar kemiğin oluşturduğu periodonsiyumun infeksiyöz hastalığıdır. Bakteri, periodontitisin oluşması ve ilerleyebilmesi için gereklidir. Ancak periodontal yıkımın şiddetini çevresel faktörler, kazanılmış hastalıklar ve genetik yatkınlıklar belirlemektedir.¹⁻³

Primer etiyolojik ajanın özellikle subgingival biofilmde bulunan Gram negatif anaerob ve fakültatif bakteriler olmasına karşın, periodontal doku yıkımının temelinde, mikroorganizmalara ve ürünlerine karşı gelişen uygun olmayan bir konak yanıtının sorumlu olduğuna inanılmaktadır.⁴

Periodontal hastalık ile Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) gen polimorfizminin arasındaki ilişkinin açıklanmasında iki önemli neden olduğunu öngörmekteyiz. MTHFR geninde görülen bazı mutasyonlar, MTHFR enziminde inaktivasyona neden olur. MTHFR enziminin eksikliği durumunda klinik semptomların geniş bir dağılım gösterdiği açıklanmıştır. Hiperhomosisteinemi ve homosisteinürinin ortaya çıktığı ciddi MTHFR eksikliğinde, periferalnöropati, gelişme geriliği, hipotonia, strok, tromboz gibi klinik özellikler görülür. MTHFR eksikliğinin hafif olduğu durumlara populasyon genelinde oldukça sık rastlanmakta olup, özellikle arterial hastalıkların oluşumunda bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir.⁵ Periodontal hastalıklar, koroner kalp hastalıkları ile ortak risk faktörlerine sahiptir. Bu nedenle MTHFR polimorfizminde bu risk faktörlerinden biri olup olmadığı araştırılmalıdır.^{6,7}

İkinci araştırılması gereken neden, MTHFR polimorfizmlerinden etkilenen homosisteinin serbest radikal etkileri nedeniyle, son yıllarda oksidatif sisteme dahil edilmiştir olmasıdır. Serbest radikaller gibi etki göstermesi vücutta birçok zararlı etkilere yol açar.⁸ Plazma homosisteinindeki değişimler homosistein metabolizmasının

yeniden metilasyonu yolları veya transsülfürasyondaki genetik veya çevre ilişkili hasarlardan sonuçlanabilir. Böylece, MTHFR plazma homosistein konsantrasyonunun düzenlenmesine de dahil edilir.⁵

Oksidatif stres durumunda serbest radikallerin reaktivitesi ve toksisitesinin, birçok kronik dejeneratif hastalığın olduğu gibi periodontal hastalığın patogenezinde de rol oynadığı gösterilmiştir.^{9,10}

MTHFR geni folat metabolizmasında anahtar rol oynayan genlerindedir. DNA sentezi gibi birçok biyokimyasal yolda folat önemlidir. Folat eksikliğinde DNA'da bazların yanlış eşleşmesi, DNA hipometilasyonu ve insan K epitelyal hücrelerinde DNA tamirinin inhibisyonu gözlenebilir. Folat metabolizmasını da birçok gen etkiler. Bu genlerdeki DNA polimorfizimleri oldukça dikkat çekicidir. Bunlardan MTHFR (C677T, A1298C), metiyonin sentaz (MTR A2759G) metiyonin sentaz retüktaz (MTRR A66G), sistatyonin B-sentaz (CBS ekzon 8) ve timidilat sentaz (TS) en bilinenleridir.

MTHFR geninde 677C→T ve 1298A→C, polimorfizimleri en yaygın görülen polimorfizimlerdir.

Çalışmamızda kronik periodontitisli hastalar ve sağlıklı bireylerde MTHFR geni 677 C→T, 1298A→T gen polimorfizmlerinin araştırılması planlanmıştır. Literatürde, MTHFR gen polimorfizimleri nöral tüp defekti, alzheimer hastalığı, kolon kanseri, lösemi, kardiovasküler hastalıklar, diabet, down sendromu, gebelik komplikasyonları gibi birçok hastalık türünde araştırmaları yapılmış ancak periodontitis arasındaki ilişkiyi inceleyen yayınlanmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı; MTHFR geninde 677C→T ve 1298A→C gen polimorfizmlerine ait genotiplendirmenin, Türk toplumunda, kronik periodontitis (KPG) ve periodontal olarak sağlıklı kontrol grubu (PSG) arasında fark olup olmadığını belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalık

Periodontal hastalık; dişi çevreleyen doku ünitesinde ortaya çıkan, hastalığın ilerlemiş formlarında doku yıkımı ve diş kaybı ile karakterize iltihabi hastalıklardır.¹¹⁻¹⁴ Hastalığın oluşumunda diş yüzeyine ve dişeti oluşuna kolonize olan mikroorganizmalar ile bu mikroorganizmaların etkilerini artıran lokal ve genel faktörler önem arz etmektedir.¹⁵⁻¹⁹ Periodontal hastalıkların etiolojisinde ana faktör mikrobiyal dental plak olmakla birlikte hastalığın başlaması ve ilerlemesinde çeşitli sistemik hastalıklar, genetik faktörler, stres ve sigara kullanımı gibi faktörler de etkili olmaktadır.¹⁹ Bu faktörler etkisi altında gingivitis olarak başlayan hastalık uzun yıllar periodontitise dönüşmeden kalabileceği gibi, periodontal ataşman ve kemik kaybı ile karakterize periodontitise de dönüşebilir.^{20, 21}

Klinik olarak sağlıklı periodonsiyumda plak birikiminin başlamasından bir müddet sonra gingivitis gözlenir. Gingivitiste epitelyal ataşman normal konumundadır ve dişetinde ödem ve hiperemi vardır. Periodontitis ise dişeti iltihabına epitelyal ataşmanın apikale göçünün, alveoler kemik ve konnektif doku kaybının da eşlik ettiği durumu tanımlar.²²⁻²⁴ Bunun yanında kemik içi cep formasyonu ile birlikte artmış sondalama cep derinliği gözlenebilir.²³⁻²⁵

Plağa bağlı gingivitis ve periodontitis periodontal hastalıklar içerisinde en sık karşılaşılan rahatsızlıklardır.²¹ Her iki hastalık ta histolojik olarak doku yıkımıyla karakterizedir. Ancak gingivitiste doku yıkımı sadece yumuşak doku ile sınırlı iken periodontitiste yumuşak dokuya ilaveten periodontal ligament ve kemik dokuda da yıkım mevcuttur.²⁶

2.1.1. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Dişeti hastalıkları neden-sonuç ilişkisine göre, farklı otörlerce değişik şekillerde tasnif edilmiştir.²⁷ Amerikan Periodontoloji Akademisi (American Academy of Periodontology), 1999 yılında periodontal hastalık sınıflamasını aşağıdaki şekilde özetlemiştir.²⁸

- 1. Dişeti Hastalıkları**
- 2. Kronik Peridontitis**
- 3. Agresif Periodontitis**
- 4. Sistemik Hastalıklarla Birlikte Görülen Periodontitis**
- 5. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar**
- 6. Apseler**
- 7. Endodontik Lezyonlarla Birlikte Görülen Periodontitis**
- 8. Gelişimsel veya Kazanılmış Deformite ve Durumlar**

Periodontitis, diş destekleyen dokuların kronik iltihabi bir hastalığıdır. Periodontitise neden olduğu kabul edilen bir grup spesifik mikroorganizma; periodontal ligament, sement, alveolar kemik ve gingivadan oluşan periodonsiyumun yıkımına yol açar. Hastalığın klinik bulguları; iltihaba bağlı olarak dişetinde oluşan renk, şekil, kıvam değişikliği, sondlamada kanama, periodontal cep oluşumu ve/veya dişeti çekilmesiyle birlikte gözlenen ataçman kaybı, dişlerde mobilite ve diş kaybı olarak tanımlanır.

Hastalığın histopatolojik bulguları ise periodontal cep oluşumu, birleşim epitelinin mine-sement sınırının apikaline doğru yer değiştirmesi, cep epitelinde yoğun polimorfonükleer lökosit birikimi, makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinden zengin iltihabi hücre topluluğunun oluşumu olarak özetlenebilir.^{29,30} Periodontitis, gingivitis ile başlayan ve tedavi edilmediği takdirde hastalığın ilerlemesi sonucu ataşman kaybı ve

alveol kemik yıkımları ile kendini gösterir.^{13, 14, 29} Gingivitten periodontitise geçişin nedenleri tam olarak bilinmemekle birlikte; bireysel konak cevabına bağlı immünolojik ve genetik faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan benzer faktörlerin periodontitisin aktivasyonunu ve klinik özelliklerini de etkilediği ve farklı periodontitis formlarının görülmesinde sistemik faktörlerle birlikte rol oynadığına dair deliller mevcuttur. Genel olarak periodontitis klinik görünüm ve seyrine göre sınıflandırılır. Kronik periodontitis daha yavaş ilerlerken agresif periodontitis daha hızlı ilerleyen ve daha şiddetli yıkımların gözlemlendiği türüdür.

Kronik periodontitis

Kronik periodontitisin ilerleme hızı oldukça değişkenlik göstermesine rağmen hastalık genellikle yavaş seyirlidir.²¹⁻²³ Kronik periodontitisin ilerleme hızı bireyden bireye, aynı bireyde dönemden döneme ve hatta aynı bireyde bölgeden bölgeye değişkenlik gösterebilir.^{13, 28} Bazı bölgelerde uzun süre pasif kalırken bazı bölgelerde hızlı bir aktivite gösterebilir. Konakçı savunma faktörleri de hastalığın şiddetinde önemli bir rol oynar.^{13, 14, 31} Dişeti dokusundaki mikroorganizmalar ile konak savunma mekanizması arasında her zaman bir denge mevcuttur.³² Bu denge mikroorganizmalar lehine bozulacak olursa, yavaş seyirli olan hastalık şiddetlenerek daha fazla kemik yıkımına ve nihayetinde diş kaybına sebep olur.^{32, 33}

Kronik periodontitisin ana etkeni mikrobiyal dental plak olup temelinde mutlaka bir gingivitis varlığı söz konusudur.^{13, 14, 34} Bununla beraber çoğu kronik iltihabi hastalık gibi, bu hastalığında başlaması ve ilerlemesinde restorasyonlar, dişin anatomik yapısı, çürük ve kök rezorbsiyonları gibi plağın birikmesini kolaylaştıran veya etkisini artıran değişik lokal faktörlerin yanı sıra osteoporoz,^{35, 36} diabet,^{37, 38} hamilelik gibi hormonal değişimler,³⁹ genetik faktörler^{1, 40} ve AIDS^{41, 42} gibi hastalıklar da etkili olan sistemik

faktörlerdir. Bununla beraber sigara kullanımı gibi kötü alışkanlıklar,^{43, 44} beslenme alışkanlığı,^{45, 46} stres,^{47, 48} ve ileri yaş¹⁹ gibi etkenlerin periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde risk faktörü olarak rol oynadığı düşünülmektedir.

Klinik olarak incelendiğinde; dişetinde renk değişikliği, stiplinglerin kaybolması, keskin olmayan yuvarlak hatlı dişeti kenarı ile beraber, kendiliğinden başlayan veya kolayca başlatılabilen dişeti kanaması sıklıkla görülür.⁴⁶ Çeşitli derinliklerde periodontal cep formasyonlarına rastlanır. Kemik kaybı hem yatay hem de dikey yönde olabileceği gibi kemik kaybının aşırı ilerlediği vakalarda dişlerde mobilitelere de rastlanır. Kronik periodontitis, etkilenen diş sayısına bağlı olarak lokalize ve generalize olmak üzere iki grupta tanımlanır. Etkilenmiş dişlerin sayısı tüm dişlere oranla <30% ise lokalize; >30% ise generalizedir.⁴⁹⁻⁵¹ Hastalık genellikle generalize formda izlenir. Kronik periodontitis ağrısız seyredebileceği gibi, bazen açığa çıkmış kök yüzeylerinin sığağa veya soğuga karşı hassas olması veya çürük gözlenmesiyle ağrı şikâyetleri olabilir. Lokalize künt ve bazen de çeneye yayılan bir ağrı mevcuttur. Akut ağrı periodontal apsenin görülmesi ile ortaya çıkar. Dişetinde ödem ve kaşıntı hissi vardır.^{52, 53}

Kronik periodontitis periodontitislerin en yaygın tipidir. Hastalık her yaşta başlayabilir ancak, sıklıkla erişkin yaşta saptanır. Yaşlanmayla birlikte hastalığın görülme sıklığı ve şiddeti artar.⁵⁴ Kronik periodontitisin klinik özelliklerini özetleyecek olursak;

- Sıklıkla erişkinlerde görülür, ancak çocukluk ve ergenlikte de izlenebilir.
- Periodontal dokulardaki yıkım miktarı, ağızda bulunan diştası ve plak gibi lokal faktörlerin varlığıyla açıklanabilir.

- Ağızda subgingival diştaşı sıklıkla izlenen bir bulgudur.
- Hastalıkta çeşitli mikroorganizmalar rol oynar.
- Hastalığın ilerleyişi yavaş veya orta hızda gerçekleşir. Ancak hızlı yıkımların gözlendiği kısa dönemler de izlenebilir.
- Kronik periodontitis, lokal olarak yatkınlığa yol açan faktörlerle ilişkili olabilir. Örneğin, dişle ilişkili veya iatrojenik faktörler.
- Hastalığın yerleşimine göre generalize veya lokalize olarak, şiddetine göre ise başlangıç, orta veya ileri olarak alt sınıflara ayrılabilir.
- Sistemik hastalıklar ve bazı lokal faktörler hastalığın seyrini etkileyebilir. Örneğin, Diabetes mellitus, HIV infeksiyonu, sigara kullanımı gibi.,

2.1.2. Periodontal Hastalık Patogenezi

Periodontal mikroorganizmaların patojenite gösterebilmeleri için en az 3 özelliğinin olması gerektiği bilinmektedir. Bu özellikler; mikroorganizmaların periodontal dokularda koloni oluşturabilmesi, konağın antibakteriyel savunma mekanizmalarını aşabilmesi ve direkt olarak doku yıkımına neden olabilecek maddeler salgılama yeteneği olarak tarif edilir.²⁹

Zira periodontal cep içinde 500'den fazla türde mikroorganizma tespit edilmiş olmasına rağmen ancak bunların belli bir kısmı hastalıktan sorumlu patojen olarak tanımlanmıştır.⁵⁵

Periodontal hastalıkta tespit edilen patojen mikroorganizmalar gram negatif anaerobik basiller, bazı koklar ve büyük oranda anaerobik spiroketlerden oluşmaktadır.⁵¹ Page'in 1998 de yaptığı bir çalışmada; başlangıç tedavisinin ardından oral hijyene ara verilerek yapılan değerlendirmede; kısa bir süre sonra protein ve glikoproteinlerinden oluşan ince pelikül tabakasının diş yüzeylerini kapladığını tespit

etti. İlk olarak gram pozitif bakteriler bu tabaka üzerine tutunduğu ve kolonize olduğu gösterildi. Birkaç gün içerisinde gram negatif türler gram pozitif bakterilere tutunup dental plağı oluşturduğu, dental plağın olgunlaşmasını takiben dişeti kenarında akut inflamasyon ve dişeti iltihabıyla karakterize olan gingivitisin geliştiği gözlemlendi. Periodontitise yatkın bireylerde plakta bulunan mikroorganizmaların dişeti oluşuna ilerlediği ve subgingival plak meydana geldiği bildirilmiştir. Diş yüzeyine sıkıca tutunan subgingival plak, bir biyofilm özelliği taşımaktadır ve konak savunma mekanizmalarına karşı direnç kazanmıştır.⁵⁶

Mikrobiyal infeksiyonu ortadan kaldırmak ve periodontitis gelişimini önlemek için birçok mekanizma birlikte rol oynar. İlk mekanizma dişin hemen çevresindeki gingival epitel, sulküler epitel ve birleşim epitel bariyerlerinin bütünlüğüdür. Bu yapılar, periodontal dokulara bakteri girişini engelleyerek bakteriyel ürünlere karşı bir koruyucu bariyer görevi üstlenir. Diğer bir mekanizma tükürük ve dişeti oluşu sıvısıdır. Bu sıvılar ağız boşluğunun, sulkus veya cebin düzenli olarak yıkanmasını sağlar. Bir diğer mekanizma da lokal immün yanıttır. Kompleman proteinleri ve spesifik antikorlar bulundurandişeti serumu içerdiği maddeler sayesinde subgingival plakta bulunan mikroorganizmaları öldürür. Mikroorganizmalarla vücudun savunma mekanizmaları arasında olan denge, mikroornizmalar lehine dönerse periodontal hastalık, konak savunma sistemi lehinde olursa sağlıklı dişeti dokusu devamlılığını korur.

Sağlıklı dişetinde, nötrofiller bağ dokusundaki kan damarlarından birleşim epiteline, takiben dişeti oluşuna doğru bir akış gösterir. Biyofilm üzerinde biriken nötrofiller plağın apikale ve laterale doğru genişlemesini önler. Sulkus veya cep duvarında biriken çok sayıda B hücresi ve plazma hücreleri bakterilere özgü spesifik antikorlar üreterek bakteri fagositozuna neden olur.^{51, 57} Doku içinde bulunan nötrofil,

antikor ve kompleman sistemi arasındaki denge periodontal patojenlerin neden olduğu yıkıcı etkilere karşı primer bir savunma yapar.

Subgingival plakta bulunan periodontal patojenlerin hastalık başlatmak veya ilerletmek için gerekli olan kritik seviyeye ulaşmalarıyla birlikte periodontal patojenlere karşı koyan koruyucu cevaplar zayıflamış olur. Dental plak, birleşim epiteli boyunca difüzyon gösteren çok sayıda metabolit salgılar. Birleşim epitelinden salınan IL-1, PGE₂, ve MMP gibi proinflamatuvar görev yapan aracı moleküller, birleşim epitelini geçerek bağ dokusuna ulaşır. Bu yolla, dişetindeki damar yapısında bozulmalar meydana gelir, mikrobiyal plağın kemoatraktan sinyalleri ile damardan dokuya doğru lökosit göçü gerçekleşir.⁵⁸ Böylece birleşim epitelinde, lokal iltihabi yanıt gerçekleşir. İlk yanıt epitel altındaki venüllerin aktive olması, damar geçirgenliğinin artması, lökosit bağlayan moleküllerin sentezi ve salınımı olarak sıralanabilir.⁵⁹

Akut iltihabi cevabın başlamasından hemen sonra T ve B lenfositler doku infiltratı içinde yoğunlaşmaya başlar. Antijen ve yoğun sitokin varlığında bu hücreler genişleyip çoğalarak CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerini oluştururlar ve B hücreleri de antikor sentezleyen plazma hücrelerine dönüşür.⁵⁷

Makrofajlar, konak cevabını akut iltihabi durumdan kronik bir patolojiye dönüştürerek periodontal hastalığın ilerlemesinde anahtar rol oynar.⁵⁷ Makrofajlar doku içinde lipopolisakkaritlerle (LPS) karşılaşarak aktif hücreler haline geldiklerinde bir grup sitokin ve yüzey reseptörü salgırlar. Bu ürünler patojeni direkt olarak hedef alan, antijene özgü immün cevabı başlatır ve iltihabi yanıtı şiddetlendirir.

Literatürler ışığında periodontitiste görülen lokal iltihabi ve immün cevap oluşumunu özetleyecek olursak; periodontitise yatkın bireylerde, dişeti oluğunda bulunan biyofilm, diş ve birleşim epiteli arasındaki bağlantıyı bozar. Biyofilm içinde

bulunan gram negatif mikroorganizmalardan salınan LPS dişetindeki mikrosirkülasyonu artırır. LPS'lerle aktive olan endotel hücrelerinden IL-1, IL-3 ve TNF- α gibi sitokinler salınır. Bu sitokinlerin salınımıyla beraber önce nötrofiller, takiben monositler ve lenfositler kan damarlarından çıkarak iltihabi hücre infiltratını oluştururlar. Aktive olan hücrelerden salınan MMP enzimler grubu, kollajen ve bağ dokusu ekstrasellüler matriksinin yıkımına ve periodontal cep oluşumuna neden olurlar. Periodontal lezyon genişledikçe konak hücreleri olan fibroblast, epitel, endotel hücreleri de doku yıkımına neden olan sitokinleri ve enzimleri salgılamaya başlarlar. Aktive olan makrofajlar ve fibroblastlardan salınan PGE₂, IL-1, IL-3, IL-6 ve TNF- α sitokinleri alveolar kemik yıkımına yol açar.⁵⁶

2.1.3. Periodontal Hastalıkta Risk ve Risk Faktörleri

Periodontal hastalıklarda risk ve risk faktörlerini tanımlarken bazı kavramları (risk indikatörlerini, risk markırlarını, risk determinantları) da izah etmek yararlı olacaktır.

Risk, belirli bir zaman aralığında bireyin belli bir hastalığa yakalanma ihtimalidir. Hastalığın görülme ihtimali, bireyden bireye farklılık gösterir. Risk faktörü ise, belli bir süre içinde bireyin hastalık gelişme ihtimalini artıran çevresel, davranışsal veya biyolojik karakteristikler olarak tanımlanır. Risk faktörü ve hastalık arasındaki ilişki her zaman “neden-sonuç” ilişkisine dayanmaz. Risk faktörü olarak kabul edilen durumlar her zaman hastalık yapacak anlamına gelmez ancak hastalığın görülme olasılığını artırır. Periodontal hastalık için risk faktörleri; patojenik bakteriler, mikrobiyal birikintiler, sigara, diabet olarak sıralanabilir.⁶⁰

Vaka-kontrol çalışmaları veya kesitsel (cross sectional) çalışmaların açığa çıkardığı ve uzun dönem (longitudinal) takip çalışmalarla doğrulukları kanıtlanmamış

muhtemel risk faktörleri, risk indikatörleri olarak tarif edilir. Risk indikatörlerinin risk faktörlerinden farkı uzun dönemli (longitudinal) çalışmalarla hastalıkla ilişkilerinin tanımlanmamış olmasıdır. Periodontal hastalık için diş hekimine gitmeme, osteoporöz, kardiyovasküler hastalıklar, AİDS (Kazanılmış immün yetmezlik sendromu) risk indikatörlerindedir.

Bir risk faktörü hastalığın gelecekteki seyrini tahmin etmek için kullanılabilirse bu risk belirleyicisi (marker) olarak bilinir. Periodontal hastalıklarda sondalamada kanama, periodontal hastalık hikayesi örnek verilebilecek risk markırlarıdır.

Risk determinantları ise bireyin hastalık geliştirme riskini değiştirmeyen faktörler olarak tanımlanır. Bunlardan en önemlisi genetik faktörlerdir. Ayrıca yaş, cinsiyet, psikososyal faktörler de (stres, sosyoekonomik durum vb) periodontal hastalık için risk determinantlarıdır.^{61,62}

2.1.4. Periodontal Hastalıkta Genetik Faktörler

Klinik kanıtlar tüm bireylerin benzer miktarda plak birikimine karşı aynı konak cevabı vermediğini göstermiştir. Plak miktarı ve plaktaki spesifik mikroorganizmaların varlığı ile periodontal hastalık şiddeti arasındaki ilişkiyi kanıtlayan çalışmalar mevcuttur.^{51,63} Bu çalışmalar değerlendirildiğinde, periodontal hastalığın klinik şiddetinde görülen farklılıkların önemli bir kısmının plak ve içeriğine ilaveten başka faktörlerin sorumlu tutulabileceği aşıkardır.⁶⁴

İnsan ve hayvanlar üzerinde yürütülen çalışmalardan elde edilen sonuçlar, genetik faktörlerin inflamatuvar ve immün sistem üzerine etkilerini göstermiştir. Bu etkilerin oluşmasında bireyin genetik özellikleri önemli rol oynar.

Birçok hastalığın etyolojisinde genetik yatkınlığın rol oynadığı bilinmektedir. Bu genetik faktörlerin hastalığın oluşmasında ve ilerlemesinde ne kadar etkili bir görev gördüğü hastalıklar arasında farklılık gösterir. Genetik faktörlerin bir hastalığı nasıl ve ne kadar etkilediği, o hastalığın etyolojisindeki genetik yatkınlığı anlamada ve bu bilgiyi hastalığın teşhis ve tedavisinde kullanmada önemlidir.

Genetik bilimiyle ilgilenen araştırmacılar geleneksel olarak genetik hastalıkları, monogenetik ve multifaktöriyel olmak üzere iki büyük başlık altında toplamışlardır.⁶⁵

Monogenik bozukluklarda, yani tek genin sebep olduğu hastalıklarda, genler hastalığın nedeni olarak tanımlanır ve gende mutasyon, yani DNA'sında kalıcı değişiklik bulunan tüm bireylerde hastalık izlenir. Çevresel faktörler hastalığın fenotipini, yani organizmanın gözlenebilir özelliklerini belirlemede çok küçük bir role sahiptir.

Etyolojilerinde hem genetik, hem de çevresel faktörlerin bir arada rol oynadığı hastalıklar multifaktöriyel hastalıklar olarak bilinir. Monogenetik bozuklukların aksine multifaktöriyel kompleks hastalıklarda ise rol oynayan genler (yatkınlık genleri daha doğrusu yatkınlık allelleri) ve çevresel faktörler biraraya geldiğinde hastalık görülme ihtimali artmaktadır. Bu hastalıklarda yatkınlık allellerinin katıldığı bireyde hastalık ancak zarar veren çevresel faktörler de eşlik ediyorsa izlenebilir. Gram negatif anaerobik mikroorganizmalar, sigara kullanımı ve kötü ağız hijyeni periodontal hastalıklar için bu çevresel risk faktörlerinden belli başlılarıdır.⁶⁶

2.2 Genetik Polimorfizm Kavramı

Dünyadaki bir çok bireyin kromozomlarında aynı bölgedeki DNA dizileri birbirine benzerlik gösterir. Popülasyonda iki farklı birey arasında DNA'nın yaklaşık 1000 baz çifti uzunluğundaki herhangi bir kısmı ortalama sadece bir baz çifti değişimi

içerir. Bir genin belli bir lokusta yer alan alternatif kopyalarından her birine allel adı verilir. Alleller, yaygın olduğu zaman genel popülasyonda kromozomlarda %1' den daha fazla bulunur; bunlar da genetik polimorfizm olarak bilinirler. Bunun aksine, alleller %1' den daha az sıklıkta ise, nadir değişimler (mutasyon) olarak adlandırılırlar.

Genlerin kodlanan dizi değişimleri farklı protein çeşitliliğine, bu durum da farklı fenotiplerin ortaya çıkmalarına sebep olur. Bu nedenle, çevre ile birey arasındaki ilişkiyi, genetik çeşitliliğin nasıl etkilediğini bize açıklayandurum, oluşan bu farklı proteinlerdir.

Herhangi bir bireyin, tüm lokusların yaklaşık %20 sinde allellerin yapısal olarak heterozigot olabildiği gösterilmiş; farklı etnik gruplardan bireyler mukayese edildiği zaman proteinlerin büyük bir kısmının polimorfizmi gösterdiği saptanmıştır. Böylece aynı etnik gruptaki insan türleri içinde, önemli derecede biyokimyasal bireysellik (chemical individuality) meydana gelmiş olur.⁶⁷

2.3. Folat Metabolizması

Folat normal DNA sentezinde ve tamirinde önemlidir. Bu sebeple folat eksikliği DNA habercilerinde bir dengesizliğe, DNA sentezi esnasında urasilin yanlış birleşmesini teşvik ederek, DNA tamir felaketi, DNA kırıklığı ve kromozom hasarına yol açar.^{68, 69}

Folat, MTHFR dahil birkaç enzimin katalizlediği metabolik transformasyonlarda gereklidir.⁵

2.3.1. Metilentetrahidrofolat Redüktaz Enzimi

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi, folat metabolizmasında önemli bir enzimdir. İnsan MTHFR geni, kromozom 1p36.3'de yerleşiktir ve 656

aminoasitten oluşan MTHFR enzimini kodlar. MTHFR geninde görülen bazı mutasyonlar, enzimde inaktivasyona neden olarak, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinüri oluşmasına neden olur.^{5, 70, 71} MTHFR enzim eksikliğinin hafif olduğu durumlara populasyon genelinde oldukça sık rastlanmakta olup, özellikle arterial hastalıkların oluşumunda bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir.^{72, 73} MTHFR C677T polimorfizminde, MTHFR enzimini kodlayan gende 677. nükleotid olan C (Sitozin)'nin T(Timin)'ye değişimi sonucu ortaya çıkan bir nokta mutasyonu vardır.^{5, 74}

MTHFR geninde belirlenen başka bir mutasyon da, enzimi kodlayan genin 7. Ekzondaki 1298. nükleotid olan A (Adenin)'nin C (Sitozin)'ye değişimi sonucu ortaya çıkan bir nokta mutasyonudur.^{75, 76} Bu mutasyonda da diğer mutasyon tipinde olduğu gibi MTHFR aktivitesi azalır. A1298C polimorfizminin, plazma homosistein derişimindeki artışı MTHFR C677T mutasyonu kadar etkilemediği ileri sürülse de, bu mutasyonun önemi henüz tam olarak açıklanamamıştır.⁷⁷

2.3.2. Homosistein

Homosistein, son yıllarda oksidatif sisteme dahil olduğu kabul edilmiş protein yapısına girmeyen bir aminoasittir.⁷⁸ Homosistein, metiyonin metabolizması sırasında oluşan ve sülfür içeren bir aminoasittir ve tiol bileşiklerinin metabolik yollarında merkezi görev üstlenmiştir

Homosistein serbest radikaller gibi davranıp endotel hasarı oluşturur.⁷⁹ Homosistein, otooksidasyonu sırasında meydana gelen süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri endotel plazma membranında ve lipoprotein partiküllerinde lipid peroksidasyonu başlatır. Yine homosisteinin otooksidasyonu düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonunu süperoksit anyon radikalleri aracılığıyla

destekler. Süperoksit radikalleri kuvvetli bir oksidan olan peroksinitriti meydana getirmek için nitrikoksit ile reaksiyona girerler.⁸⁰ Özetle homosisteinin oksidasyonu sırasında oksidatif hasar artmış olur.

MTHFR enzimidaki konjenital eksiklik veya metabolizma sırasında reaksiyonlarda görev alan folik asit, vitamin B12 ve B6'nın yetersizliğine bağlı olarak plazma homosistein düzeyleri yükselmektedir (Hiperhomosisteinemi).⁸¹

Hiperhomosisteinemi vücutta birçok zararlı etkilere yol açmaktadır. Bunlardan bazıları endotel hasarı oluşturması ve bu olayın sonucunda da trombosit aktivasyonu, pıhtılaşma faktörlerinin modifikasyonu, trombüs formasyonu gibi koagülasyonu artırıcı etkiler meydana getirmesi, biyolojik membranlarda oksidasyon yapması, LDL oksidasyonu yaparak ateroskleroza artırıcı etkiler ortaya çıkarması sayılabilmektedir. Homosistein düzeylerinin artmasının bir sonucu da endotelde bulunan ve lipid peroksidasyonunu engelleyen glutatyon peroksidaz aktivitesinin baskılanmasıdır.^{82, 83}

Hiperhomosisteinemi birçok damarsal yapıyazarar vererek dolaşım ile ilişkili birçok hastalığı tetiklemekte ve/veya mevcut hastalıkların etkilerini potansiyelize etmektedir. Periodontal dokuların damarlanmasındaki yetersizliklerde ciddi periodontal hastalıkların geliştiğini bilmekteyiz.(sigara kullanımı, diabet vb). Bu nedenle homosisteinin meydana getireceği damarlanma hasarının periodotal hastalıkların etkilerini artırmada önemli bir role sahip olabileceğini düşünmekteyiz.

Hiperhomosisteinemi nedenlerine göz atacak olursak;

Hiperhomosisteinemi Nedenleri

Edinsel Nedenler

Vitamin eksikliği (Folik asit, Vitamin B6, Vitamin B12)

Kronik hastalıklar

Kronik böbrek yetmezliği

Hipotroidi

Psöriazis

Malinite

İlaç kullanımı

Antikonvulzanlar

Metotreksat

Nitroz oksit

Teofilin

Genetik nedenler

Sistation p-sentaz etmezliği

MTHFR yetmezliği ya da defekti

Metionin sentaz defekti

Vitamin B12 transport defekti

Vitamin B12 koenzim sentez defekti

3. MATERYAL VE METOT

Bu araştırma, kronik periodontitis hastalar ile periodontal açıdan sağlıklı bireyler üzerinde yürütülmüştür. Çalışmaya başlamadan önce proje Atatürk Üniversitesi Etik Kurulu'na sunulmuş ve 18.02.2009 tarihinde 2009.1.1/8 dosya numarası ile etik kurul onayı alınmıştır.

3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi ve Klinik Değerlendirme

Çalışma gruplarını; Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran, periodontal tedavi gereksinimi olan kronik periodontitis tanısı alan hastalar ile kontrol grubu olarak sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireyler oluşturmuştur. Çalışmaya katılan tüm bireyler projenin amacı ve yöntemleri hakkında sözlü olarak bilgilendirilmiş ve yazılı onayları alınmıştır.

Kronik Periodontitis Grubu (KPG): Yaşları 29-65 arasında değişen 27 kadın, 22 erkek toplam 49 hasta bu grupta değerlendirilmiştir. Yapılan klinik muayenede her hastada en az altı bölgede (biri anteriorda olmak üzere) 5mm'den büyük periodontal cepleri veya klinik ataçman kaybı bulunan ve radyografik incelemede %25'den fazla kemik kaybı olan generalize kronik periodontitis teşhisi konmuş hastalar KPG grubunu oluşturmuştur. Çalışmaya katılan hastaların yapılan klinik ölçümleri sonrasında gerekli periodontal tedavileri yapılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen bireylerde belirli kriterler arandı;

- Kooperasyonun iyi olması.
- Hastaların herhangi bir sistemik rahatsızlığının bulunmaması,
- Hastaların daha önce periodontal tedavi görmemiş olması,
- Hastaların herhangi bir madde bağımlısı olmaması ve sigara içmemesi,

- Hastaların teşhis radyogramlarından alveol kemik kaybının saptanabilir olması ve kronik periodontitis teşhisi konmuş olması.

Periodontal Sağlık Grubu (PSG): Bu gruba sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı, yaşları 22-68 arasında değişen, 22 kadın, 16 erkek toplam 40 hasta katılmıştır.

Bireyler belirli kriterlere göre seçildi,

- Bireylerin herhangi bir sistemik rahatsızlığının bulunmaması,
- Bireylerin herhangi bir periodontal rahatsızlığının bulunmaması,
- Bireylerin herhangi bir madde bağımlısı olmaması ve sigara içmemesi,
- Bireylerin teşhis radyogramlarından alveol kemik kaybının saptanmamış olması ve hiçbir bölgede 3 mm'den daha fazla sondalanabilir cep derinliğinin olmaması.

Çalışma Gruplarının Periodontal Sağlık Durumlarının Değerlendirilmesi

Periodontal cep derinliği (CD): Çalışmaya katılan tüm bireylerin CD ölçümleri Williams periodontal sondu kullanılarak her dişte meziobukkal, bukkal, distobukkal, meziolingual, lingual ve distolingual olmak üzere altı ayrı noktadan milimetrik olarak yapıldı. Ölçüm sırasında periodontal sondun herhangi bir basınç uygulanmaksızın, kendi ağırlığı ile dişlerin uzun eksenine paralel olarak cep içinde konumlanmasına dikkat edildi. Tüm ağız CD değerleri, elde edilen değerlerin ortalaması alınarak ayrı ayrı saptandı.

Klinik ataçman seviyesi (KAS): Bireylerde tüm dişlere ait KAS değerleri Williams periodontal sondu kullanılarak periodontal cep tabanı ile mine-sement sınırına kadar olan mesafe ölçülerek saptandı. Ölçümler her dişte meziobukkal, bukkal, distobukkal, meziolingual, lingual ve distolingual olmak üzere altı ayrı noktadan milimetrik olarak yapıldı. Tüm ağız KAS değerleri, elde edilen değerlerin ortalaması alınarak ayrı ayrı saptandı.

Plak indeksi (Pİ): Tüm ağza ait plak varlığı ve miktarı, Silness ve Loe'nin⁸⁴ plak indeksi (Pİ) ile değerlendirildi.

Plak indeksine göre;

0: Dişeti bölgesinde plakolmadığını,

1: Serbest dişeti kenarına ve komşu diş yüzeyinde film halinde sadece sond yardımı ile fark edilebilen plak varlığını,

2: Dişeti cebi içerisinde ve dişeti kenarına komşu diş yüzeyinde yoğun yumuşak eklenti varlığını,

3: Dişeti cebi ve dişeti kenarına komşu diş yüzeyinde gözle görülebilir yoğunlukta yumuşak eklenti varlığını gösterdiği belirtilmiştir.

Her hasta için PI değerleri aşağıda belirtilen formül ile belirlendi ve tüm ağız ortalama değerleri ayrı ayrı hesaplandı.

$$PI = \frac{\text{Tüm dişlerdeki plak değeri toplamı}}{\text{Mevcut diş sayısı toplamı}}$$

Kanama indeksi (Kİ):Dişetinde kanama olup olmadığı Loe ve Silness'in⁸⁵ gingival indeksi (Gİ) ile belirlendi.

Gingival indeksine göre;

0:Sağlıklı dişeti.

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

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

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

Her hasta için KI değerleri aşağıda belirtilen formül ile belirlendi ve tüm ağız ortalama değerleri ayrı ayrı hesaplandı.

$$KI = \frac{\text{Tüm dişlerdeki kanama değeri toplamı}}{\text{Mevcut diş sayısı toplamı}}$$

3.2. Gereçler

Kullanılan Alet ve Cihazlar

- Elektronik terazi (Precisa 160 M)
- Santrifüj (Nüve CN180, NF048)
- Otoklav (Tinget)
- Etüv (Haraeus)
- Mikrodalga fırın (Altus ALMD 17S)
- Çekerocak (Cromex)
- Hassas terazi (Shimatzu)
- Soğutmalı santrifüj (Harrier 18/80)
- Otomatik pipetler 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl (Orange Scientific)
- Mikropipet uçları 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl (Labtips)
- 0,5 ml'lik ependorf tüpü (Axygen)
- 1,5 ml'lik ependorf tüpü (Axygen)
- 2 ml'lik ependorf tüpü (Axygen)
- Plastik pastör pipeti
- Isıtımlı manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica)
- Electrophoretic gel system (Bio-Rad Sub-cell GT)
- Thermal cyclers (Bioer XP Cyclers)
- Buzdolabı (Aręelik 26775)

- Yatay elektroforez sistemi (Biolab-wealtec elite 300 plus)
- Jel görüntüleme ve analiz sistemi (Syngene)
- PCR

Sarf Malzemeler

- Kandan DNA İzolasyon kiti (Vivantis GF-1)
- Ethylenediamine-Tetraacetic Asit (EDTA)
- Etanol (MERCK)
- Tris (SIGMA)
- Cam Malzemeler
- EDTA lı biyokimya tüpü
- Eppendorf Tüpleri
- Distile Su
- Tüplük
- Borik Asit (Riedel-de Haen)
- Etidium Bromid (SIGMA)
- PCR Mix (PROMEGA)
- Falkon tüpleri
- Yükleme Boyası (FERMANTAS)
- Boyut Markırı (FERMANTAS)
- Hinf I restriksiyon enzimi (FERMANTAS)
- MboII restriksiyon enzimi (FERMANTAS)

3.3. Çalışma Yöntemleri

3.3.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarından kan örnekleri toplandı. DNA izolasyonu yapmak için EDTA lı tüplere 2 ml venöz kan alındı.

3.3.2. Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, kiti üretici firmanın (Vivantis GF-1 Blood DNA Extraction User Guid) kullanın protokolleri doğrultusunda yapıldı ve elde edilen DNA lar -20°C de saklandı.

3.3.3. Moleküler Çalışma Basamakları

3.3.3.1. PCR

DNA'nın, Polimeraz Zincir Reaksiyonlarında (PCR) çoğaltılması, her bir polimorfizm ayrı ayrı olmak üzere aşağıda verilen PCR miksleri hazırlandı. Bu mikslerde değişen sadece primer çiftleridir. Diğer parametreler değişmemektedir.

Promega PCR Mix	12µl
Primer-1 (10pmol)	3µl
Primer-2 (10pmol)	3µl
DNA	6µl

Eklenir ve distile su ile total volüm 50µl' ye tamamlanır.

Tablo 3.1. MTHFR C677T, MTHFR A1298C, polimorfizmleri için kullanılan primer dizileri

677CT P ₁ (sense)	5 '-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3'
677CTP ₂ (antisense)	5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'
1298AC P ₁ (sense)	5'-GCAAGTCCCCCAAGGAGG-3'
1298ACP ₂ (antisense)	5'-GGTCCCCACTTCCAGCATC-3'

MTHFR 677C→T PCR Programı

94°C	2dk	Denatürasyon periyodu
94°C	1 dk	} 40 siklus
60°C	1dk	
72°C	1dk	
72°C	7dk	Ekstensiyon periyodu
4°C	∞	

MTHFR 1298A→C PCR Programı

92°C	2dk	Denatürasyon periyodu
92°C	1 dk	} 35 siklus
60°C	1dk	
72°C	30sn	
72°C	7dk	Ekstensiyon periyodu
4°C	∞	

PCR Ürünlerinin Elektroforezi

PCR işleminin ardından hedef DNA bölgesinin amplifikasyonunun doğru gerçekleşip gerçekleşmediğinin kontrol edilmesi için PCR ürünleri jelde koşturulur.

3.3.3.2. Agaroz Jel Hazırlanması

Kullanılan solüsyonların hazırlanması

- TBE Tamponu (10 X)

108 gr Tris

55 gr Borik asit

7,31 gr EDTA tartılarak

Distile su ile 1lt'ye tamamlanır.

- Etidyum Bromür (%1'lik):

0,2 gr etidyum bromür hassas terazide dikkatlice tartılarak 20 ml' ye tamamlanır.

% 2' lik Agaroz Jel Hazırlanması:

2 gr Agaroz, TBE tamponu ile 100 ml' ye tamamlanır, mikrodalga fırında 200°C sıcaklıkta 30 sn erimesi sağlanır, jel kalıbına dökmeden önce yaklaşık 65 °C'ye kadar soğutulur. İçerisine 6µl etidyum bromo eklenir, karıştırılır ve jel kalıbına dökülür, Kuyucukların oluşmasını sağlayan tarak takılır ve donmaya bırakılır.

3.3.3.3.PCR Ürününün Agaroz Jele Yüklenmesi

Jelin ilk ve son kuyucuğuna ürünün bant boyutunu karşılaştırmak amacıyla DNA boyut markırı yüklendi. PCR ürününden 6µl alındı ve üzerine 1µl yükleme tamponu eklendi. Mikropipetle karıştırıldıktan sonra sırasıyla her bir PCR ürünü kuyucuğa yüklendi. % 2' lik agaroz jelde 100V 30 dakika elektroforez yapıldı.

3.3.3.4.RFLP Analizi

Araştırmamızda enzimin kesme bölgesine rastlayan polimorfizmleri belirlemek için "PCR temelli RFLP yöntemi" kullanıldı. Kesilme işlemi tamamlandıktan sonra örnekler jel elektroforezi ile yürütüldü ve oluşan görüntüler incelenerek genotipler belirlendi.

MTHFR 677C→T Polimorfizim Analizi Enzim Muamelesi;

MTHFR 677C→T polimorfizminde C- T baz çifti değişimi olan Hinf I restriksiyon bölgelerinin belirlenebilmesi için aşağıdaki karışım hazırlandı. HinfI restriksiyon enzimi muamelesi için;

Buffer R	2µl
Enzim (Hinfl)	1,5µl
PCR Ürünü	10µl
Distile Su	18µl

37°C de 1 gece inkübe edildi.

MTHFR 677C→T Polimorfizim Enzim Kesimi Sonrası Elektroforez

Değerlendirmesi;

Enzimle kesilmiş PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde koşturuldu. Yabanıl tip (677CC) 198 bp'de tek bant gösterdi, heterozigotlar (677CT) 198,175 ve 23 bp fragmentlerini gösterdi. Homozigot mutantlar (677TT) 175 ve 23 bp fragmentleri gösterdi.

MTHFR 1298 A→C Polimorfizim Analizi Enzim Muamelesi;

MTHFR 1298A→C polimorfizminde A-C baz çiftinin değişimi C baz çifti değişimi olan MboII restriksiyon bölgelerinin belirlenebilmesi için aşağıdaki karışım hazırlandı. MboII restriksiyon enzimi muamelesi için;

Buffer B	2µl
Enzim(MboII)	1,5µl
PCR Ürünü	10µl
Distile Su	18µl

37°C de 1 gece inkübe edildi.

MTHFR 1298 A→C Polimorfizim Enzim Kesimi Sonrası Elektroforez

Değerlendirmesi;

Enzimle kesilmiş PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde koşturuldu. Hem yabanıl tip (1298AA) 56, 31, 30, 28 ve 18 bp'lik 5 fragment, hem heterozigot (1298AC) 84,

56, 31, 30, 28 ve 18 bp'lık 6 fragment hem de homozigot mutant (1298CC) 84, 31, 30 ve 18 bp'lık 4 fragment araştırıldı. Majör görünür bantlar olan 84 ve 56 bp'lık bantlar değerlendirildi.

3.4. İstatistiksel Analizler:

Gruplar arasında MTHFR 677 C→T ve 1298 A→C gen polimorfizmleri açısından fark olup olmadığı Ki-Kare (Pearson χ^2 , Likelihood Ratio) testi ile değerlendirildi. Gruplar arasında klinik ölçümlerle belirtilen değişkenler açısından fark olup olmadığı, varsayımların sağlanması durumunda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) analizi yapılarak LSD karşılaştırma testi ile değerlendirme yapılmıştır. Bu istatistiksel analizler SPSS 15 programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışma grubuna dahil edilen 27 kadın ve 22 erkek toplam 49 hastanın yaş ortalamaları 39.4 ± 15.1 iken kontrol grubuna katılan 24 kadın ve 16 erkek toplam 40 bireyin yaş ortalamaları 37.2 ± 16.6 idi.

Araştırmamızda elde edilen bulgular, klinik ve laboratuvar bulguları olmak üzere iki ana başlıkta ele alındı.

4.1. Klinik Bulgular

Çalışma grubuna dahil edilen kronik periodontitisli hastalardan ve kontrol grubuna dahil edilen periodontal olarak sağlıklı bireylerden elde edilen Pİ, Kİ, KAS ve SD ölçümleri Tablo 4.2.'de gösterildi.

Her iki grup karşılaştırıldığında; yaş parametresi haricindeki ($p>0.05$) diğer parametreler arasında istatistiksel olarak ileri derecede önemli farklılıklar tespit edildi ($p<0.001$).

Tablo 4.2. Gruplar arası klinik parametrelerin karşılaştırılması.

Parametre	Grup	n	X±SD	P değeri
YAŞ	Çalışma Grubu	49	39.4 ±15.1	0.724*
	Kontrol Grubu	40	45.7 ±12.1	
Pİ	Çalışma Grubu	49	2.1±0.61	0.000**
	Kontrol Grubu	40	1.01±0.62	
Kİ	Çalışma Grubu	49	1.7±0.50	0.000**
	Kontrol Grubu	40	0.6±0.49	
SD	Çalışma Grubu	49	3.5±0.65	0.000**
	Kontrol Grubu	40	1.8±0.4	
KAS	Çalışma Grubu	49	3.4±0.79	0.000**
	Kontrol Grubu	40	0.7±0.93	

*>0.05 istatistiksel olarak önemsiz

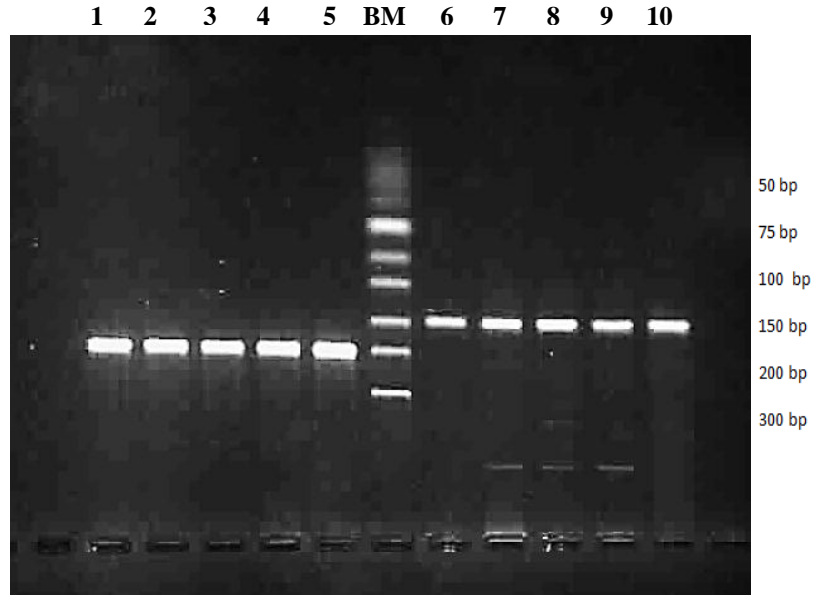
**<0.001 istatistiksel olarak ileri düzeyde önemli

4.2. Laboratuvar Bulgular

Araştırma protokolümüz gereği 49 kronik periodontitisli hasta ile kontrol grubu 40 sağlıklı bireyin periferik kanından izole edilen DNA örneklerinin PCR ve RFLP Analizi aşağıda verildi.

4.2.1. PCR Bulguları

MTHFR 677 C→T ve 1298 A→C bölgelerinin PCR ürünlerinin %2'lik agoroz jel görüntüsü Şekil 4.1.'de verildi. Hasta ve kontrol örneklerinde MTHFR 677CT 198 bp'de MTHFR 1298AC 163 bp'de ilk PCR ürünleri oluşturuldu.



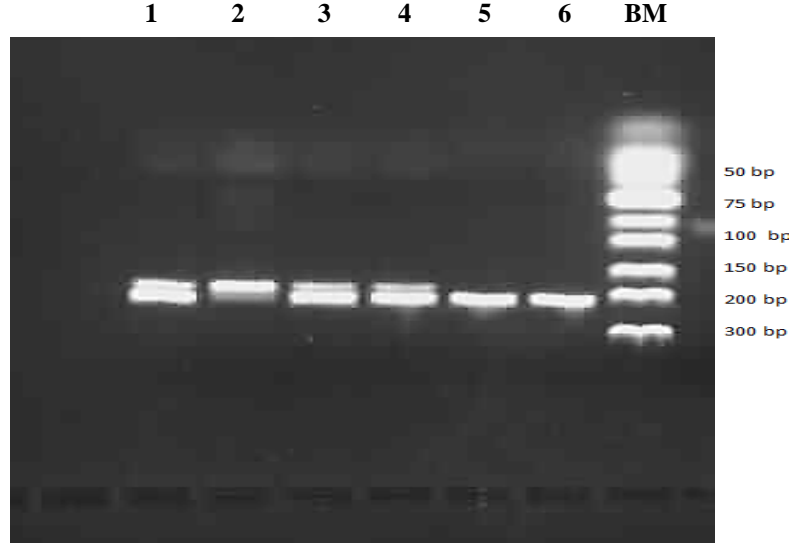
BM:Boyut Markırı, **1,2,3,4,5:**MTHFR 677CT 198 bp **6,7,8,9,10:**1298AC 163 bp'de PCR ürünleri

Şekil 4.1. MTHFR 677 C→T ve 1298 A→C bölgelerinin PCR ürünlerinin %2'lik agoroz jel görüntüsü

4.2.2. RFLP Analizi Bulguları

4.2.2.1 MTHFR 677C→T Polimorfizimi

MTHFR 677C→T bölgesinin Hinf I restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonrası %2'lik agoroz jel görüntüsü Şekil 4.2.'de verildi. MTHFR 677CT polimorfizimi için %2'lik agoroz jelde koşturularak yababil tip (677CC), heterozigot (677CT) ve homozigot (677TT) olguları tespit edildi.



BM: Boyut Markırı, **1,3,4:**Heterozigot 198,175 bp'de, **2:**Homozigot 175 bp'de **5,6:**Yabanıl Tip198 bp'de bant verdi.

Şekil 4.2.MTHFR C677T bölgesinin Hinf I restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonrası %2'lik agoroz jel görüntüsü

Çalışma grubunda genotip yüzdeleri sırasıyla % 69,4, %24,5 ve %6,1 olarak tespit edildi. Heterozigot formda (CT) kontrol grubunda %17,5 iken ve çalışma grubunda %24,5 idi Gruplar arasında gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 4.3).

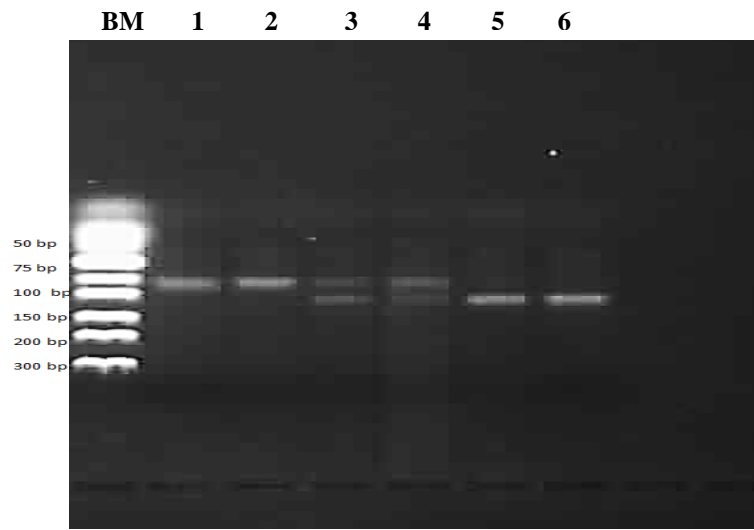
MTHFR 677 varyant allel için homozigot olan çalışma grubunda (%6,1) kontrol grubunun (%12,5) yaklaşık yarısı kadar olduğu gözlemlendi. Gruplar arasında gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. MTHFR C677T Polimorfiziminin çalışma ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

GRUPLAR	677 CC		677 CT		677 TT		Toplam
	Yabanıl Tip Sayı	%	Heterozigot Sayı	%	Homozigot Sayı	%	
Çalışma	34	69,4	12	24,5	3	6,1	49
Kontrol	28	70	10	17,5	2	12,5	40
Toplam	60	69,7	22	24,7	5	5,6	89

4.2.2.2 MTHFR 1298 A→C Polimorfizimi

MTHFR 1298 A→C bölgesinin MboII restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonrası %2'lik agoroz jel görüntüsü Şekil 4.3de verildi. MTHFR 1298 A→C polimorfizimi için %2'lik agoroz jelde koşturularak yabancı tip (1298AA), heterozigot (1298 AC) ve homozigot (1298CC) varyasyonları tespit edildi.



BM: Boyut Markını, **1,2:**Yabancı Tip 56 bp'de, **3,4:**Heterozigot 84,56 bp'de, **5,6:**Homozigot 84bp'de bant verdi

Şekil 4.3.MTHFR A1298C bölgesinin MboII restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonrası %2'lik agoroz jel görüntüsü.

Çalışma grubunda MTHFR 1298AA, 1298AC ve 1298CC genotipininin dağılımı %36,7, %55,1 ve %8,2'dir. Ancak gruplar arasında gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. MTHFR 1298 A→C polimorfiziminin çalışma ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

GRUPLAR	1298 AA		1298AC		1298 CC		Toplam
	Yabani Tip		Heterozigot		Homozigot		
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Çalışma	18	36,7	27	55,1	4	8,2	49
Kontrol	14	35	21	52,5	5	12,5	40
Toplam	32	36	48	54	9	5,6	89

5. TARTIŞMA

MTHFR'nin 677 ve 1298 bölgesindeki polimorfizmin periodontal hastalıkla ilişkisi laboratuvar bulguları ışığında değerlendirildi. Literatürde, MTHFR polimorfizminin farklı toplumlarda farklı hastalık gruplarında değişik sonuçları olabileceği rapor edilmiştir.⁸⁶⁻⁸⁸

Bilgilerimiz dahilinde, bu çalışma MTHFR 677 ve 1298 polimorfizminin kronik periodontitis üzerine olabilecek etkisinin Türk toplumunda araştırıldığı ilk çalışma olması bakımından önemlidir.

Periodontal hastalık, bakteri plağı, konak, genetik ve çevresel faktörlerin kompleks etkileriyle oluşan multifaktoriyel bir hastalıktır. Bakteri plağı tarafından uyarılan konağın immün yanıtı ile periodontal dokular bir yandan korunurken, bir yandan da yıkıma uğramaktadır.^{29, 49, 89} Periodontal hastalıkta, doku yıkımına neden olan iltihabi ve immünolojik mekanizmalar genetik kontrol altında olduğuna dair deliller mevcuttur.⁶⁵ Konağın immünoinflamatuvar yanıtını etkileyebilecek genetik varyasyonlar farklı DNA hasarları meydana getirerek doku yıkımına neden olurlar. Böylece periodontal hastalığa yatkınlıkta ve hastalığın seyrinde önemli rol oynarlar.

DNA'nın yaşla birlikte polimorfizmler açısından değişim göstermediği bilinmektedir. Bu nedenle gruplar oluşturulurken yaş faktörü önemli bir parametre olarak ele alınmadı. Farklı yaşlardaki bireyler çalışmaya dahil edildi.

Sigara, periodontal hastalıklar için önemli risk faktörlerindedir. Son dönemlerde değişik toplumlarda yapılan geniş ölçekli epidemiyolojik çalışmalarda periodontal hastalıkların % 50'sinden fazlasında sigaranın sorumlu tutulduğu bildirilmiştir.⁹⁰ Cross sectional çalışmalarda sigara kullanımının, risk değerlendirmesi bakımından genetik

faktörlere ait etkinin izlenmesini engelleyecek bir faktör olduğu gösterilmiştir.^{91, 92} Bu nedenle çalışmamızda MTHFR polimorfizmlerinin risk faktörü olarak hastalığa yatkınlık oluşturan diğer faktörlerden etkilenmeksizin değerlendirilebilmesi için sigara içmeyen bireylerin seçimine dikkat edilmiştir.

Multifaktoriyel bir etyolojiye sahip periodontal hastalıkta, sigara ve oral hijyen gibi çevresel faktörler, hastalığın görülme sıklığını çok güçlü bir şekilde etkilediği için, genetik faktörlerin periodontal hastalık üzerine etkisinin gölgelendiği muhtemeldir. Kronik periodontitisin ilerleme hızının bireyden bireye, aynı bireyde dönemden döneme ve hatta aynı bireyde bölgeden bölgeye değişkenlik göstermesi, bazı bölgelerde uzun süre pasif kalırken bazı bölgelerde hızlı bir aktivite göstermesi kronik periodontitise yatkınlıkta genetik faktörlerin etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Kronik periodontitiste aile bireyleri ve ikizler üzerinde yapılan çalışmalar bu düşüncüyü destekler niteliktedir.^{65, 93-95}

Genetik faktörlerin belirlenmesinde önemli nokta, hastalığın klinik tablosunda farklılık yaratabilecek ölçüde anlamlı rol oynayan genetik etkenlerin tanımlanabilmesidir. Bu nedenle hastalığın patogenezinde rol oynayan hedef genlerin incelenmesi önemlidir. Bu genetik varyasyonlar, genin kodladığı protein fonksiyonunu büyük ölçüde değiştiren ya da bozan bir mutasyon değil, protein üretiminin miktarı ve düzenlenmesinde önemli değişikliklere yol açan genetik varyasyonlar, yani gen polimorfizmleridir.^{96, 97} Ancak bugün için periodontitiste etkili olabileceği düşünülen hastalığı modifiye edebilen genler konusunda çok az bilgi vardır ve kronik periodontitise özgü gen mutasyonları henüz belirlenememiştir. Bu nedenle kronik periodontitise yatkınlık genlerinin tanımlanması henüz yapılmamıştır.

Polimorfizm çalışmalarının amacı hastalığa yatkınlık, hastalık şiddeti ve prognozu etkileyen genetik faktörlerin tanımlanmasıdır.^{96,100} Periodontal hastalığın iltihabi karakteri nedeniyle, inflamatuvar ve immün cevabı düzenleyen ve doku rejenerasyonunda rol alan genlerdeki varyasyonlar ve periodontal hastalık arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Bu amaçla sitokinler, “human leukocyte antigen” (HLA), İmmün reseptörler (FcγR, CD14, TLR4 reseptörleri), proteazlar (MMP’ler) ve yapısal proteinler (katepsin-C, vitamin D-R) gibi hedef genlerdeki polimorfizmler çalışılmıştır.^{91, 98-105} Ancak yapısal proteinler içinde yer alan MTHFR ile periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi belirten herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

MTHFR gen polimorfizmleri ve periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi tartışabileceğimiz bizim bilgimiz dahilinde literatür bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle araştırmamızı bu yönlü başka literatürlerle mukayese etme şansımız olmamakla birlikte, bulgularımızı farklı hastalık grupları ve farklı etnik gruplar arasında tartışacağız.

MTHFR geninde görülen bazı mutasyonlar, enzimde inaktivasyona neden olur. MTHFR enziminin eksikliği durumunda klinik semptomların geniş bir dağılım gösterdiği açıklanmıştır.⁵

MTHFR polimorfizmi çalışılan hastalık tiplerine; Nöral tüp defekti, Alzheimer’s hastalığı, kolon kanseri, lösemi, kardiyovasküler hastalıklar, diabet, Down sendromu ve gebelik komplikasyonları dahil edilmiştir.¹⁰⁶

MTHFR’nin C677T polimorfizminin kardiyovasküler hastalıklar, nöral tüp defektleri, strok, Down sendromu, meme ve endometrial kanser gibi hastalıklarda risk faktörü olduğu açıklanmıştır.^{5, 107, 108} Yapılan çeşitli araştırmalarda, MTHFR 677TT genotipli hastalarda, akut lösemi, kolorektal ve akciğer kanserlerine yakalanma riskinin azaldığı, endometrial kanserlere yakalanma riskinin arttığı ileri sürülmüştür.^{107, 109, 110}

Koroner, periferel ya da serebral vasküler hastalıklığı olan 190 Hollandalı hastada yapılan araştırmada,677CT ya da 677TT genotipinde 677CC genotipli bireylere göre MTHFR aktivitesi önemlioranda düşmüş ve homosistein seviyeleri yükselmiştir.¹¹¹

Periodontal hastalıklar, koroner kalp hastalıkları ile ortak risk faktörlerine sahiptir.^{112, 113} Kalp hastalığı ve periodontal hastalıklarda yer alan ve yaygın biyolojik süreçleri etkileyen genetik yatkınlık faktörleri, periodontitis ile kardiovasküler hastalıklar arasında bir ilişki kurulabileceği yönünde güçlü sinyaller vermektedir.¹¹⁴

Tip 2 diabetli Japon hastalar arasında diyabetik nefropati ile 677T allelinin ilişkisi araştırılan çalışmada Tip 2 diabette, C677T polimorfizminin, miyokardial infarkt riskini ve karotid arterial duvar kalınlaşmasını artırdığı gözlemlendi.⁸⁷ Fakat bu görüşü desteklemeyen çalışmalarda mevcut olup, İrlandalı (tip 1), Alman (tip 1 veya 2) ve Japon (tip 2) diabetik hastalarından oluşan çalışmalarda, MTHFR gen polimorfizminin, diabetik nefropati ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir.⁸⁷ A1298C ve C677T insan MTHFR gen mutasyonlarının diaabetik nefropati ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.¹¹⁵ Bu her iki mutasyonun diabetik popülasyonlarda sıklığı yüksektir.¹¹⁵

Geniş kapsamlı epidemiyolojik çalışmalarda diabetin periodontal hastalık için önemli bir risk faktörü olduğu bulunmuştur.¹¹⁶⁻¹¹⁹ Yukardaki görüşler doğrultusunda diabetik bireylerdeki genetik yatkınlığın periodontal hastalıklarda da rol oynayabileceği düşünülmektedir.

C677T polimorfiziminin kolon kanseri ve lösemi için koruyucu olabileceği bildirilmiştir. İlk çalışmalar T allelinin lenfatik lösemi için koruyucu olabileceği fakat myeloid lösemi için olmadığını ileri sürmektedir.¹⁰⁶

MTHFR 677 TT genotipindeki bireylerin yanı sıra 1298 CC genotipli bireylerde de akut lenfatik lösemnin riskinde azalma gözlemlenmiştir. İlâveten çift heterozigotlar

(677 CT/1298 AC) normal bireylerle (TT) kıyaslandığında gelişen ALL riskinde önemsiz bir azalma gösterilmiştir¹²⁰

Song ve ark.¹²⁰ yaptığı vaka kontrollü bir çalışmada ise; 1298 CC genotip 1298 AA genotipiyle kıyaslandığında özofagus yassı hücre karsinomasının yükselen riskiyle bağlantılı bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda ise; MTHFR 677 C→T polimorfizminde TT genotip yüzdesi kontrol grubunda % 12,5 iken çalışma grubunda % 6,1 idi. Ancak istatistiksel olarak aradaki fark anlamlı değildi ($p>0,05$). Kontrol grubunda TT genotipinin çalışma grubundan yüzde oranının yaklaşık 2 kat fazla olması bize bu gen değişiminin kronik periodontitiste koruyucu rol oynayabileceği kanısı uyandırdı.

MTHFR 677 C→T ile 1298 A→C polimorfizmleri karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre çalışma grubu heterozigot formda yüzde olarak artış görülmesine rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Bu değerler paralelinde her iki polimorfizmde görülen heterozigoluğun hastalık lehine olabileceği düşünüldü.

MTHFR 1298 A→C polimorfizminin heteroziot genotipi çalışma ve kontrol gruplarında %50'ler civarında bulundu. Bu da Türk toplumunda AC genotip oranının yüksek olduğunu ve görülme sıklığının her iki kişiden birinde olduğu söylenebilir.

Polimorfik MTHFR lokusu endometrial kanser, servikal intraepitelyal neoplazi ve meme ve/veya overyum kanseriyle de ilişkilidir. Fakat gendeki polimorfizmin varlığı ya da yokluğu kanser veya kalp hastalığı gibi yaygın multifaktöriyel hastalıkları açıklamak için tek başına yeterli olamaz.¹²⁰ Multifaktöriyel bir hastalık olan periodontal hastalığa yatkınlık veya koruyuculuğun açıklanması için de yapılan mevcut çalışmalar yeterli olmayacaktır.

C677T polimorfizminin etnik ve coğrafi değişimi oldukça fazladır. TT oranı Amerika'daki siyah popülasyonda, sahra Afrikasının uç kısımlarında ve Güney Amerika'da %1 iken Amerikan Hispaniks, Kolombiya ve Brezilya'daki Amerindianlarda %20'nin üzerindedir. TT genotip sıklığı Avrupa'daki beyaz toplumda, Kuzey Amerika'da ve Avusturalya'da %8-20'dir. Avrupa'da, kuzeyden güneye doğru varyant sıklığı artmaya meyillidir. Japonların %12'si TT homozigottur.¹²¹ Çalışmamızda da TT homozigot oranı %5,6 olarak bulunmuştur.

A1298C için, Kuzey Amerika çalışmalarında CC prevalansı, temelde beyaz tenli bireylerin dahil edildiği, %7-12 arasındadır. Avrupa'daki çalışmaların çoğunda CC dağılım sıklığı %4-12 arasındadır. Çin, Japon ve Havai toplumlarında CC genotipli bireyler %1-4 arasındadır. Başka bir çalışmada ise sıklık oranları Brezilya'da %6, Fas'da %3, Güney Afrika'da %4 ve İsrail Yahudilerinde ise %13 olarak bulunmuştur.¹²¹ Yaptığımız çalışmada ise CC homozigotların oranı çalışma grubumuzda %10 bulunmuştur ve Avrupada'ki çalışmaların çoğuyla paralellik içindedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada elde edilen sonuçlara bakacak olursak;

- 1) Tüm klinik parametreler, periodontal hastalıklı olan çalışma grubunda, periodontal olarak sağlıklı olan kontrol grubundan ileri derecede yüksek bulundu. Bu tahmin edilen bir sonuçtu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,001$). Sadece yaş dağılımında önemli bir fark saptanmadı ($p > 0,05$).
- 2) MTHFR 677 C→T polimorfizminde kontrol grubuna göre çalışma grubunda yapılan yabancı tip (CC), heterozigot (CT) ve homozigot (TT) genotip analizinde gruplar arasında yüzde oranlarında değişiklikler tespit edilmesine rağmen aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).
- 3) Benzer değerlendirme MTHFR 1298 A→C polimorfizmi için yapıldı. Çalışma grubundan elde edilen yabancı tip (AA), heterozigot (AC) ve homozigot (CC) genotip analizleri kontrol grubundan yüzdelik oranları farklı tespit edilmesine rağmen aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).
- 4) MTHFR 677 C→T ile 1298 A→C polimorfizmleri karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre çalışma grubu heterozigot formda yüzde olarak artış görülmesine rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).
- 5) MTHFR 677 C→T polimorfizminde TT genotip yüzdesi kontrol grubunda % 12,5 iken çalışma grubunda % 6,1 idi. Ancak istatistiksel olarak aradaki fark anlamlı değildi ($p > 0,05$).
- 6) MTHFR 1298 A→C polimorfizminin CC genotipinde kontrol grubunda çalışma grubuna nisbeten daha yüksek oranda bulunduğu görüldü. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

- 7) MTHFR 1298 A→C polimorfizminin heteroziot genotipi çalışma grubunda %55,1 ve kontrol gruplarında %52,5 idi. Araştırmamızda Türk toplumunda AC genotipi yüksek oranda bulundu.

KAYNAKLAR

1. Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*, 1997,14:202-215.
2. Salvi GE, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*, 1997,14:173-201.
3. Williams RW, Weaver JL, Lowrey AH. Relation between calculated amide frequencies and solution structure in Ala-X peptides. *Biopolymers*, 1990,30:599-608.
4. Darveau RP. Oral Innate host defence responses: interactions with microbial communities and their role in the development of the disease. *Oral Bacterial Ecology: The Molecular Basis*, Wymondham, UK, Horizon Scientific Press, 2000: 169-218.
5. Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P, Chen Z. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Journal of the International Mammalian Genome Society*, 1998;9:652-656.
6. B Fallon UB B-SY, Elwood P. Homocysteine and coronary heart disease in the caerphilly cohort. *Heart*, 2001,85:153-158.
7. Özer Ö. Periodontitis kardiyovasküler hastalığa neden olur mu? *Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2005,15: 62-70.
8. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental physiology*, 1997,82:291-295.
9. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007,39:44-84.

10. Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of clinical periodontology*, 1997,24:287-296.
11. Brown LJ, Loe H. Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontology 2000*,1993,2:57-71.
12. Pilot T. The periodontal disease problem. A comparison between industrialised and developing countries. *International Dental Journal*, 1998,48:221-232.
13. Williams RC. Periodontal disease. *The New England Journal of Medicine*, 1990,322:373-382.
14. Offenbacher S. Periodontal diseases: Pathogenesis. *Annals of Periodontology*, 1996,1:821-878
15. Sanchez AR, Kupp LI, Sheridan PJ, Sanchez DR. Maternal chronic infection as a risk factor in preterm low birth weight infants: the link with periodontal infection. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 2004,6:89-94.
16. The World Oral Health Report 2003: Continuous improvement of oral health in the 21st century - The approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol*, 2003,31: 3-24.
17. Özçaka Taşdemir Ö. Periodontal hastalıklı bireylerde serum mannoz bağlayıcı lektin düzeyleri ve gen polimorfizminin genotip-fenotip ilişkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi 2006.
18. Sanchez AR KL, Sheridan PJ, Sanchez DR. Maternal chronic infection as a risk factor in preterm low birth weight infants: the link with periodontal infection. *J Int Acad Periodontol*, 2004, 6: 89-94.

19. Lindhe J KT, Lang NP. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 4thed. Munsgaard, Blackwell Publishing Company, 2003;198-208.
20. Yamamoto K, Kobayashi T, Grossi S, Ho AW, Genco RJ, Yoshie H. Association of Fc gamma receptor II a genotype with chronic periodontitis in Caucasians. *Journal of Periodontology*, 2004,75:517-522.
21. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 2004,34:9-21.
22. Armitage GC. Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 1995,7:39-53.
23. Armitage GC. Periodontal diseases: diagnosis. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology*, 1996,1:37-215.
24. Armitage GC. Classifying periodontal diseases-a long-standing dilemma. *Periodontology 2000*, 2002,30:9-23.
25. Armitage GC. Manual periodontal probing in supportive periodontal treatment. *Periodontology 2000*, 1996,12:33-39.
26. Lindhe J, Okamoto H, Yoneyama T, Haffajee A, Socransky SS. Periodontal loser sites in untreated adult subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, 1989,16:671-678.
27. Ranney RR. Classification of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 1993,2:13-25.
28. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology*, 1999,4:1-6.

29. Flemmig TF. Periodontitis. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology*, 1999,4:32-38.
30. Nagy RJ, Novak MJ. Chronic Periodontitis. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA (eds). *Carranza's Clinical Periodontology*. 9thed, Philadelphia, W.B. Saunder's Co, 2002:398-402.
31. Paquette DW, Williams RC. Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 2000,24:239-252.
32. Chaplle ILC, Gilbert AD. *Understanding Periodontal Diseases Assessment and Diagnostic Procedures in Practice*, London, Quintessence Publishing Co. Ltd,2002: 31-51.
33. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, 1997,14:9-11.
34. PP. The World Oral Health Report 2003: Continuous improvement of oral health in the 21st century - The approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol*, 2003, 31: 3-24.
35. Reddy MS. Osteoporosis and periodontitis: discussion, conclusions, and recommendations. *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology*, 2001,6:214-217.
36. Wactawski-Wende J. Periodontal diseases and osteoporosis: association and mechanisms. *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology*, 2001,6:197-208.
37. Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Periodontology*, 1991,62:123-231.

38. Southerland JH, Taylor GW, Moss K, Beck JD, Offenbacher S. Commonality in chronic inflammatory diseases: periodontitis, diabetes, and coronary artery disease. *Periodontology 2000*, 2006,40:130-143.
39. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*,2005,366:1809-1820.
40. Amano A, Kishima T, Akiyama S, Nakagawa I, Hamada S, Morisaki I. Relationship of periodontopathic bacteria with early-onset periodontitis in Down's syndrome. *Journal of Periodontology*, 2001,72:368-373.
41. Lamster IB, Grbic JT, Bucklan RS, Mitchell-Lewis D, Reynolds HS, Zambon JJ. Epidemiology and diagnosis of HIV-associated periodontal diseases. *Oral Diseases*, 1997,3:141-148.
42. Zambon JJ, Reynolds HS, Genco RJ. Studies of the subgingival microflora in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Journal of Periodontology*,1990,61:699-704.
43. Gonzalez YM, De Nardin A, Grossi SG, Machtei EE, Genco RJ, De Nardin E. Serum cotinine levels, smoking, and periodontal attachment loss. *Journal Of Dental Research*, 1996,75:796-802.
44. Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *Journal of Clinical Periodontology*, 2001,28:377-388.
45. Nishida M, Grossi SG, Dunford RG, Ho AW, Trevisan M, Genco RJ. Calcium and the risk for periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 2000,71:1057-1066.

46. Nishida M, Grossi SG, Dunford RG, Ho AW, Trevisan M, Genco RJ. Dietary vitamin C and the risk for periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 2000,71:1215-1223.
47. Vettore MV, Leao AT, Monteiro Da Silva AM, Quintanilha RS, Lamarca GA. The relationship of stress and anxiety with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2003,30:394-402.
48. Monteiro da Silva AM, Oakley DA, Newman HN, Nohl FS, Lloyd HM. Psychosocial factors and adult onset rapidly progressive periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 1996,23:789-794.
49. Greenstein G. Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. *Journal of the American Dental Association*, 2000,131:1580-1592.
50. Ambili R, Santhi WS, Janam P, Nandakumar K, Pillai MR. Expression of activated transcription factor nuclear factor-kappaB in periodontally diseased tissues. *Journal of Periodontology*, 2005,76:1148-1153.
51. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 2001,25:8-20.
52. Quirynen M, Teughels W, De Soete M, van Steenberghe D. Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. *Periodontology 2000*, 2002,28:72-90.
53. Hujoel PP, Cunha-Cruz J, Loesche WJ, Robertson PB. Personal oral hygiene and chronic periodontitis: a systematic review. *Periodontology 2000*,2005,37:29-34.
54. 1999 International International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Papers. Oak Brook, Illinois, October 30-November 2,

1999. *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology*, 1999,4:1-112.
55. Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 1994,5:66-77.
56. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology*, 1998,3:108-120.
57. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology 2000*, 1997,14:33-53.
58. Abe T, Hara Y, Aono M. Penetration, clearance and retention of antigen en route from the gingival sulcus to the draining lymph node of rats. *Journal of Periodontal Research*, 1991,26:429-439.
59. Waldrop TC, Anderson DC, Hallmon WW, Schmalstieg FC, Jacobs RL. Periodontal manifestations of the heritable Mac-1, LFA-1, deficiency syndrome. Clinical, histopathologic and molecular characteristics. *Journal of Periodontology*, 1987,58:400-416.
60. Novak KF, Novak M.J. Risk Assesment. In: (Ed. Newman MG, Takei HH, Carranza FA), *Carranza's Clinical Periodontology*. 9thed., Philadelphia, W.B. Saunder's Co,2002:469-474.
61. Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 2003,31:167-180.

62. Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, 1996,67:1041-1049.
63. Taichman N, Lindhe J. *Pathogenesis of plaque-associated periodontal disease. Textbook of Clinical Periodontology* 2nd ed., Lindhe J ed., Copenhagen, 1992:153-192.
64. Kornman KS, Knobelmann C, Wang HY. Is periodontitis genetic? The answer may be Yes! *Journal of the Massachusetts Dental Society*, 2000,49:26-30.
65. Kinane DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*, 2003,14:430-449.
66. Michalowicz BS, Philstrom, B.L. Genetic factors associated with periodontal disease. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA (eds). *Carranza's Clinical Periodontology*. 9thed, Philadelphia, W.B. Saunder's Co,2002:168-181.
67. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boerkoel CF. *Thompson and Thompson Tibbi genetik*, 6.baskı, İstanbul, Güneş Kitabevi, 2005:132-135
68. Bailey LB, Gregory JF, 3rd. Folate metabolism and requirements. *The Journal of Nutrition*, 1999,129:779-782.
69. Blount BC, Ames BN. DNA damage in folate deficiency. *Bailliere's Clinical Haematology*, 1995,8:461-478.
70. Goyette P, Rosenblatt D, Rozen R. Homocystinuria (methylene tetrahydrofolate reductase deficiency) and mutation of factor V gene. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 1998,21:690-691.
71. Rosenblatt DS. Methylene tetrahydrofolate reductase. *Clinical and Investigative Medicine*, 2001,24:56-59.

72. Daly SF, Molloy AM, Mills JL, Lee YJ, Conley M, Kirke PN. The influence of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase genotypes on enzyme activity in placental tissue. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1999,106:1214-1218.
73. Stern LL, Bagley PJ, Rosenberg IH, Selhub J. Conversion of 5-formyltetrahydrofolic acid to 5-methyltetrahydrofolic acid is unimpaired in folate-adequate persons homozygous for the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *The Journal of Nutrition*, 2000,130:2238-2242.
74. Schneider JA, Rees DC, Liu YT, Clegg JB. Worldwide distribution of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *American Journal of Human Genetics*, 1998,62:1258-1260.
75. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a Huge review. *American Journal of Epidemiology*, 2000,151:862-877.
76. Shpichinetsky V, Raz I, Friedlander Y, Goldschmidt N, Wexler ID, Ben-Yehuda A. The association between two common mutations C677T and A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk for diabetic nephropathy in type II diabetic patients. *The Journal of Nutrition*, 2000,130:2493-2497.
77. Szczeklik A, Sanak M, Jankowski M, Dropinski J, Czachor R, Musial J. Mutation A1298C of methylenetetrahydrofolate reductase: risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia. *American Journal of Medical Genetics*, 2001,101:36-39.

78. McCully KS. Chemical pathology of homocysteine. V. Thioretinamide, thioretinaco, and cystathionine synthase function in degenerative diseases. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 2011,41:301-314.
79. Garaliene V. The main determinants of endothelial dysfunction. *Medicina*, 2006,42:362-369.
80. Wilcken DE, Wang XL, Adachi T, Hara H, Duarte N, Green K. Relationship between homocysteine and superoxide dismutase in homocystinuria: possible relevance to cardiovascular risk. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 2000,20:1199-1202.
81. Miner SE, Evrovski J, Cole DE. Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: an update. *Clinical Biochemistry*, 1997,30:189-201.
82. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 1995,274:1049-1057.
83. Brattstrom L, Israelsson B, Tengborn L, Hultberg B. Homocysteine, factor VII and antithrombin III in subjects with different gene dosage for cystathionine beta-synthase. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 1989,12:475-482.
84. Silness J, Loe H. Periodontal Disease In Pregnancy. Ii. Correlation Between Oral Hygiene And Periodontal Condtion. *Acta Odontologica Scandinavica*,1964,22:121-135.
85. Loe H, Silness J. Periodontal Disease In Pregnancy. I. Prevalence And Severity. *Acta Odontologica Scandinavica*, 1963,21:533-551.

86. Van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *American Journal of Human Genetics*, 1998,62:1044-1051.
87. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *Journal of Nephrology*, 2000,13:20-33.
88. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, Gaziano JM, Buring J. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. A case-control study. *Circulation*, 1996,94:1812-1814.
89. Newman MG, Carranza FA. Periodontal Pathology. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA (eds). *Carranza's Clinical Periodontology*. 9thed, Philadelphia, W.B. Saunder's Co,2002:254-262
90. Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of Periodontology*, 2000,71:743-751.
91. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 1997,24:72-77.
92. Sakellari D, Koukoudetsos S, Arsenakis M, Konstantinidis A. Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population. *Journal of Clinical Periodontology*, 2003,30:35-41.
93. Corey LA, Nance WE, Hofstede P, Schenkein HA. Self-reported periodontal disease in a Virginia twin population. *Journal of Periodontology*, 1993,64:1205-1208.

94. Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs JE, Segal NL. Periodontal findings in adult twins. *Journal of Periodontology*, 1991,62:293-299.
95. Levin M, Newport MJ, D'Souza S, Kalabalikis P, Brown IN, Lenicker HM. Familial disseminated atypical mycobacterial infection in childhood: a human mycobacterial susceptibility gene? *Lancet*, 1995,345:79-83.
96. Shapira L, Wilensky A, Kinane DF. Effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection. *Journal of Clinical Periodontology*, 2005,32:72-86.
97. Takashiba S, Naruishi K. Gene polymorphisms in periodontal health and disease. *Periodontology 2000*,2006,40:94-106.
98. Fishman D, Faulds, G., Jeffrey, G., Mohammed-Ali, V., Yudkin, J.S. Humphries Svd. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *The Journal of Clinical Investigation*, 1999,102:1369-1376.
99. Gonzales JR, Michel J, Diete A, Herrmann JM, Bodeker RH, Meyle J. Analysis of genetic polymorphisms at the interleukin-10 loci in aggressive and chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2002,29:816-822.
100. Amer A, Singh G, Darke C, Dolby AE. Association between HLA antigens and periodontal disease. *Tissue Antigens*,1988,31:53-58.
101. Chung HY, Lu HC, Chen WL, Lu CT, Yang YH, Tsai CC. Gm (23) allotypes and Fcgamma receptor genotypes as risk factors for various forms of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*,2003,30:954-960.

102. Folwaczny M, Glas J, Torok HP, Fricke K, Folwaczny C. The CD14 -159C-to-T promoter polymorphism in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 2004,31:991-995.
103. de Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB, Jr., Barros SP, Line SR. Analysis of the MMP-9 (C-1562 T) and TIMP-2 (G-418C) gene promoter polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2005,32:207-211.
104. Sun JL, Meng HX, Cao CF, Tachi Y, Shinohara M, Ueda M. Relationship between vitamin D receptor gene polymorphism and periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 2002,37:263-267.
105. Craandijk J, van Krugten MV, Verweij CL, van der Velden U, Loos BG. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2002,29:28-34.
106. Carmet R GR, Rosenblatt DS, Watkins D. Update on cobalamin, folate and homocysteine. *American Society of Hematology*, 2003,5: 62-81.
107. Fodinger M HW, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *Journal of Nephrology*, 2000,13:20-33.
108. Schmitz C LK, Verhoef P. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. *Circulation Research*, 1996, 94: 1812-1814.
109. Bova I CJ, Sylantiev C. The A677C methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and carotid atherosclerosis. *Stroke; A Journal of Cerebral Circulation*, 1999,30: 2180-2182.

110. Kang S WP, Susmano A. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: An inherited risk factor for coronary artery disease. *Journal of Human Genetics*, 1991, 48: 536-545.
111. Lievers KJ, Godfried HB, Verhoef P, Heijer M, Leo AK, Blom HJ. A second common variant in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine and cardiovascular disease risk. *Journal of Molecular Medicine*, 2001, 9: 522-528.
112. Seymour RA, Preshaw PM, Thomason JM, Ellis JS, Steele JG. Cardiovascular diseases and periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*, 2003, 30: 279-292.
113. Emingil G, Buduneli E, Aliyev A, Akilli A, Atilla G. Association between periodontal disease and acute myocardial infarction. *Journal of Periodontology*, 2000, 71: 1882-1886.
114. Kornman KS, Duff GW. Candidate genes as potential links between periodontal and cardiovascular diseases. *Annals of Periodontology / The American Academy of Periodontology*, 2001, 6: 48-57.
115. Shpichinetsky V RI, Friedlander Y. The association between two common mutations C677T and A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk for diabetic nephropathy in type II diabetic patients. *Journal of Nutrition*, 2000, 130: 2493-2497.
116. Loe H, Anerud A, Boysen H, Smith M. The natural history of periodontal disease in man. The rate of periodontal destruction before 40 years of age. *Journal of Periodontology*, 1978, 49: 607-620.

117. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 1993,16:329-334.
118. Lamster IB, Lalla E, Borgnakke WS, Taylor GW. The relationship between oral health and diabetes mellitus. *Journal of the American Dental Association*, 2008,139:19-24.
119. Shlossman M, Knowler WC, Pettitt DJ, Genco RJ. Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. *Journal of the American Dental Association*, 1990,121:532-536.
120. Song C XD, Tan W, Wel Q, Lin D. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a chinese population. *Cancer Reasearch*, 2001,61: 3272-3275.
121. Sharp L LJ. Polymorphism in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia:A Huge Review. *American Journal of Epidemiology*,2004,159: 423-443.

EKLER

EK-1

ÖZGEÇMİŞ

Karabük'te 27.01.1982 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Karabük'te tamamladı. Yüksek öğrenimini 1999-2004 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde yaptı. 2005 yılında Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. 2006 yılında aynı bölüme araştırma görevlisi olarak girdi. Hala aynı bölümde görev yapmaktadır. Yabancı dili İngilizcedir. Evli bir çocuk annesidir.

EK-2

KLİNİK PARAMETRE DEĞERLENDİRME FORMU

PLAK İNDEKSİ (Pİ):

☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒
☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒

GİNGİVAL İNDEKS (Gİ):

☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒
☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒

KLİNİK ATAŞMAN SEVİYESİ (KAS):

☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒
☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒

SONDALANABİLİR CEP DERİNLİĞİ (SD):

☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒
☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Sayın katılımcı, bu araştırma Atatürk üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji anabilim dalında tez çalışması olarak yürütülmektedir. Araştırmayı kabul etmeniz durumunda size sırasıyla şu işlemler uygulanacaktır; Dişetinizdeki iltihabı telafi etmek, kanamayı gidermek amacıyla kliniğimize gelen her hastaya uygulanan rutin işlemler yapılacaktır. Dişlerinizin üzerindeki diştaşları, plak ve yiyecek artıkları temizlenecektir. Size diş fırçalama işlemini nasıl yapacağınızı anlatılacaktır. Dişinizin radyolojik filmi ve koldaki brachial venden bir miktar kan (2cc) alınacaktır. Bu çalışmanın amacı sizden alınan kan örneklerinde hastalığınızın belli gen bölgesindeki genetik yatkınlığı incelemektir. Araştırmayı reddetme hakkına sahipsiniz. Ayrıca size herhangi bir ücret ödenmeyecek ve sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. İstedığınız zaman çalışmadan çıkma hakkına sahipsiniz. İlgı ve yardımınız için teşekkür ederim.

Arş. Gör. Dt. Gülhan ÜNAL KOCAMAN

Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Periodontoloji AD

Katılımcının beyanı

Araştırmacılar tarafından yukarıdaki bilgiler tarafıma aktarılarak bu çalışmaya katılımcı olarak davet edildim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmadım ve yapılan tüm açıklamaları anlamış bulunmaktayım. Araştırmanın yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal

sorumluluk altına girmiyorum ve herhangi bir ödeme talep etmiyorum. Yukarıdaki bilgileri okudum ve bu koşullarda bu araştırmaya kendi rızamla, hiçbir zorlama ve baskı altında kalmadan katılmayı kabul ediyorum.

Hasta

İsim Soyisim:

İmza: