

**T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PERİODONTAL HASTALIK VE MMP-1 GEN POLİMORFİZMİ İLE  
DİŞETİ OLUĞU SIVISI MMP-1 VE TIMP-1  
DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Kemal ÜSTÜN**

**Danışman  
Prof.Dr. Nilgün Özlem Alptekin**

**KONYA-2007**

## İÇİNDEKİLER

<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. LİTERATÜR BİLGİ</b>	<b>4</b>
2.1.1. Periodontal Hastalık	4
2.1.2. Periodontitisin Etiyolojisi ve Patogenezi	5
2.2.1. Matriks Metalloproteinazlar	8
2.2.2. Matriks Metalloproteinazların Aktivitesinin Düzenlenmesi	12
2.2.3. Klinik Bulgular	14
2.2.4. <i>In vitro</i> Çalışmalar	18
2.3. Periodontal Hastalıkta Konak Cevabının Önemi	19
2.4.1. Risk Değerlendirmesi	20
2.4.2. Sigaranın Periodontal Hastalığa Etkileri	23
2.5.1. Genetik Terminoloji	27
2.5.2. Hastalıkların Genetik Temelleri	29
2.5.3. Temel Mendel Hastalıkları	30
2.5.4. Kompleks Genetik Hastalıklar	30
2.5.5. Polimorfizm ve Mutasyon	31
2.6.1. Genetik Analiz Metodları	32
2.6.2. Ailesel Agregasyon	33
2.6.3. İkiz Çalışmaları	33
2.6.4. Segregasyon Analizleri	34
2.6.5. Bağlantı Analizleri	34
2.6.6. İlişki Çalışmaları	35
2.5.1. Periodontal Hastalıklarda Genetiğin Rolü	37
2.7.1. Periodontal Hastalıklarda Gen Polimorfizmleri	37
2.7.2. Matriks Metalloproteinaz Polimorfizmleri	38
<b>3. MATERYAL ve METOD</b>	<b>41</b>
3.1. Çalışma Grubu	41
3.2. Periodontal Değerlendirme	41
3.3. Sigara Tüketiminin Değerlendirilmesi	43
3.4.1. Örnek Alınacak Dişleri Tespiti	43
3.4.2. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Değerlendirmesi	44

3.5. Dişeti Oluğu Sıvısı MMP-1 ve TIMP-1 Düzeylerinin Belirlenmesi	44
3.6. DNA İzolasyonu	45
3.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	46
3.7.1. Matriks Metalloproteinaz-1 -1607 Polimorfizminin Araştırılması	47
3.7.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşulları	47
3.7.3. Restriksiyon Endonükleaz Analizi	48
3.8. Verilerin İstatistiksel Analizi	48
<b>4. BULGULAR</b>	<b>50</b>
4.1. Klinik Bulgular	50
4.2. Genetik Bulgular	53
4.3. Biyokimyasal Bulgular	55
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>65</b>
5.1. Yaş Ortalaması, Diş Sayısı ve Sigara İçme Alışkanlığı	65
5.2. Klinik Periodontal Parametreler	66
5.3. Matriks metalloproteinaz-1 Polimorfizmi ve Periodontal Hastalık	66
5.4. Biyokimyasal Parametreler	70
<b>6. ÖZET</b>	<b>75</b>
<b>7. SUMMARY</b>	<b>77</b>
<b>8. LİTERATÜR LİSTESİ</b>	<b>79</b>
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>90</b>
<b>10. TEŞEKKÜR</b>	<b>91</b>

## KISALTMALAR

Aa	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
AgP	Agresif periodontitis
AIDS	Kazanılmış immün yetmezlik sendromu “Acquired Immune Deficiency Syndrome”
AKK	Alveoler kemik kaybı
bFGF	Bazik fibroblast büyüme faktörü “basic fibroblast growth factor”
<i>C. rectus</i>	<i>Campylobacter rectus</i>
DOS	Dişeti oluğu sıvısı
<i>E. corrodens</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
<i>E. nodatum</i>	<i>Eubacterium nodatum</i>
EGF	Epidermal büyüme faktörü “Epidermal growth factor”
ELISA	Enzyme linked immüno sorbent assay
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
FİB-KL	Fibroblast kaynaklı kollajenaz
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü “Human immuno deficiency virus”
HRP	Horseradish peroksidaz
IL	İnterlökin
KAK	Klinik ataşman kaybı
KP	Kronik periodontitis
Maks	Maksimum
Min	Minimum
MMP	Matriks metalloproteinaz
MT-MMP	Membran tip MMP’ler
NGF	Sinir büyüme faktörü “Nerve growth factor”
Ort	Ortalama
<i>P. micros</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>P. nigrescens</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu “Polymerase chain reaction”
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü “Platelet derived growth factor”

## IV

PG	Prostaglandin
Pİ	Plak indeksi
PMNL	Polimorfonükleer lökositler
RFLP	Kesim uzunluğu parça polimorfizmi “Restriction fragment length polymorphism”
<i>S. intermedia</i>	<i>Streptococcus intermedia</i>
SCD	Sondlama cep derinliği
SL	Stromelisin
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi “Single nucleotide polymorphism”
Ss	Standart sapma
sIL-6r	Çözülebilir IL-6 reseptörü “soluble IL-6 receptor”
<i>T. denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
<i>T. forsythensis</i>	<i>Tannerella forsythensis</i>
TGF	Transforme olabilen büyüme faktörü “Transforming growth factor”
TIMP	Matriks metalloproteinazın doku inhibitörü “Tissue inhibitor metalloproteinases”
TNF	Tümör nekroz faktör

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1	Matriks metalloproteinazlar, matriks substratları, biyoaktif substratı ve aktivitesi	10
Tablo 1.2	Genetik polimorfizmlerin periodontal hastalık ile ilişkisi	38
Tablo 4.1	Sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerin,yaş dış sayısı ve sigara kullanım düzeyleri	50
Tablo 4.2	Sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde klinik periodontal parametre değerleri	51
Tablo 4.3	Sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan bireylerde klinik periodontal parametre değerleri	52
Tablo 4.4	MMP-1 geni -1607 bölgesindeki polimorfizmin periodontal doku sağlığına göre dağılımı	54
Tablo 4.5	Sigara içme alışkanlığı olmayan bireylerde MMP-1 geni -1607 bölgesindeki polimorfizmin periodontal doku sağlığına göre dağılımı	54
Tablo 4.6	Sigara içme alışkanlığı olan bireylerde MMP-1 geni -1607 bölgesindeki polimorfizmin periodontal doku sağlığına göre dağılımı	55
Tablo 4.7	Sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı	56
Tablo 4.8	Sigara içme alışkanlığı olmayan ve sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı	57
Tablo 4.9	Sigara içme alışkanlığı olan ve sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı	58
Tablo 4.10	Klinik periodontal parametreler ile DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı arasındaki Pearson korelasyonu	59
Tablo 4.11	Sigara içme alışkanlığı olmayan bireylerde klinik periodontal parametreler ile DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı arasındaki Pearson korelasyonu	59

Tablo 4.12	Sigara içme alışkanlığı olan bireylerde klinik periodontal parametreler ile DOS hacmi ( $\mu\text{l}$ ), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar ( $\text{pg}/30\text{sn}$ ) ve konsantrasyonları ( $\text{pg}/\mu\text{l}$ ) ve MMP-1/TIMP-1 oranı arasındaki Pearson korelasyonu	60
Tablo 4.13	Matriks metalloproteinaz-1 polimorfizmi “1G/1G”, “1G/2G” ve “2G/2G” genotipi olan bireylerde DOS hacmi ( $\mu\text{l}$ ), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar ( $\text{pg}/30\text{sn}$ ) ve konsantrasyonları ( $\text{pg}/\mu\text{l}$ ) ve MMP-1/TIMP-1 oranı	61
Tablo 4.14	Periodontal olarak sağlıklı MMP-1 polimorfizmi “1G/1G”, “1G/2G” ve “2G/2G” genotipi olan bireylerde DOS hacmi ( $\mu\text{l}$ ), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar ( $\text{pg}/30\text{sn}$ ) ve konsantrasyonları ( $\text{pg}/\mu\text{l}$ ) ve MMP-1/TIMP-1 oranı	62
Tablo 4.15	Orta şiddetli periodontitisli MMP-1 polimorfizmi “1G/1G”, “1G/2G” ve “2G/2G” genotipi olan bireylerde DOS hacmi ( $\mu\text{l}$ ), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar ( $\text{pg}/30\text{sn}$ ) ve konsantrasyonları ( $\text{pg}/\mu\text{l}$ ) ve MMP-1/TIMP-1 oranı	63
Tablo 4.16	Şiddetli periodontitis teşhisi konulmuş MMP-1 polimorfizmi “1G/1G”, “1G/2G” ve “2G/2G” genotipi olan bireylerde DOS hacmi ( $\mu\text{l}$ ), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar ( $\text{pg}/30\text{sn}$ ) ve konsantrasyonları ( $\text{pg}/\mu\text{l}$ ) ve MMP-1/TIMP-1 oranı	64

**ŞEKİL LİSTESİ**

Şekil 4.1	MMP-1 -1607 polimorfizmine ait jel elektroforez görüntüleri	53
-----------	---	----

## 1.GİRİŞ

Periodontitis, dişeti, periodontal ligament, alveoler kemik ve sementten oluşan periodonsiyumun kaybıyla karakterize enfeksiyöz bir hastalıktır. Şiddetli periodontal hastalıklar periodontal ataşmanın ve dişlerin kaybedilmesinin en önemli nedenleri arasındadır.

Periodontal hastalıkların öncelikli etiyolojik ajanı mikrobiyal dental plaktır. Özel olarak mikroorganizma bulundurmayan ortamlarda beslenen ve mikroorganizma olmayan hayvanlarda yapılan çalışmalarda periodontitisin gelişmediği saptanmıştır. Bununla birlikte, klinik gözlemler ve yapılan çalışmalar her bireyin plak birikimine karşı aynı cevabı vermediğini göstermiştir. Ağız hijyeninin sağlanmadığı bazı bireylerde periodontal hastalığın çok yavaş ilerlemesine karşın, plak yoğunluğunun daha az olduğu pek çok bireyde Şiddetli periodontal hastalıkların görüldüğü rapor edilmiştir. Günümüzde, periodontitis etiyolojisinde çevresel ve genetik faktörler gibi birçok etkenin yer aldığı “multifaktöriyel” veya yeni bir tanımlama ile “eko-genetik” bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Mikrobiyal dental plak, diştaşı ve sigara kullanımı gibi çevresel faktörlerin yanı sıra konağa bağlı sistemik ve genetik faktörler de periodontal doku sağlığına etki etmektedir.

Şüpheli periodontopatojenler periodontal dokularda belirli bir yoğunluğa ulaştığında ve nötrofiller ve diğer savunma hücrelerinin mikrobiyal tehdide karşı koyamadığında alveoler kemik kaybıyla sonuçlanan bir dizi olay gerçekleşir. Bu cevabın önemli bir kısmından enflamasyonun biyokimyasal aracı molekülleri olan sitokinler sorumludur. Bu moleküller, dokudaki diğer hücreleri uyararak, kemik yıkımına yol açan prostoglandin(PG)-E<sub>2</sub> ve bağdokusu kaybından sorumlu matriks metalloproteinaz (MMP)’ların üretimini arttırır.

Matriks metalloproteinazlar hücre dışı matriks makromoleküllerinin büyük kısmını yıkabilen nötr, metale bağımlı endopeptidaz grubudur. Matriks metalloproteinaz ailesinin günümüze tespit edilen yirmialtı üyesinden sadece yedi tanesi tip I kollajen fibrillerini yıkabilmektedir. Matriks metalloproteinaz -1 bu kollajenazların en önemlilerinden birisidir ve

fibroblastlar, keratinositler, endotel hücreleri, monositler, makrofajlar, osteoblastlar ve kondrositler tarafından üretilmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda MMP-1'in periodontal dokularda ve dişeti oluğu sıvısı (DOS)'nda bulunduğu tespit edilmiştir.

Son yıllarda periodontal doku sağlığı ve genetik arasındaki ilişkinin değerlendirildiği çalışmalar artış göstermiştir. Tek yumurta ikizleri üzerlerinde yapılan araştırmalarda genetik özelliklerin periodontal hastalık üzerinde %50 oranında etkili olduğu rapor edilmiştir. Patogenezinde pek çok etkenin rol oynadığı bilinen periodontitis, kardiyovasküler hastalıklar gibi durumlardan tek bir gen sorumlu değildir ve olası genetik etki pek çok genin birlikte oluşturduğu bir sonuçtur. Ayrıca, hastalıkla ilişkilendirilmiş bir gen sağlıklı bireylerde de görülebilir ve hastalıkla ilişkili bir genin ürünü normal sınırlara yakın görev yapabilir. Periodontal hastalıkların genetik kökenleri son yıllarda gelişen genetik teknolojilerle araştırılmakta, periodontal hastalıkla ilişkili olabilecek aday genler tespit edilmekte ve bu aday genlerin değişik toplumlarda periodontal hastalığın genetik etiyolojisine yapabileceği katkılar araştırılmaktadır. Bu genler tespit edilebildiği takdirde periodontal hastalığı geliştirmeye yatkın kişiler önceden tespit edilip gereken önlemler alınabilir veya genetik teknolojinin ilerlemesi ile genetik tedaviler mümkün olabilir.

Matriks metalloproteinaz-1 geni 11. kromozomun q22.3 bölgesinde bulunmaktadır. Yakın zamanda MMP-1 geni promotor bölgesinde “-1607” numaralı bölgede bir polimorfizm tanımlanmış ve 2G “alleli”nin daha fazla MMP-1 üretimi ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür.

Toplumlar arasındaki genetik varyasyonlar nedeniyle bir toplumda yapılan genetik çalışmanın sonucu başka bir toplumdan daha farklı bulunabilir. Çalışmalarda çeşitli toplumlarda MMP-1 geni ile periodontal hastalık arasındaki ilişki araştırılmış, ancak çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca, literatürde MMP-1 geni “-1607 polimorfizmi”nin periodontal hastalık ve DOS MMP-1 ve MMP-1'in doku inhibitörü “Tissue Inhibitor of Matrix

Metalloproteinase” (TIMP-1) düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışma tespit edilememiştir.

Bu araştırmanın hipotezi, MMP-1 geninin -1607 bölgesindeki 1G ve 2G allellerinin periodontal hastalık ve DOS MMP-1 ve TIMP-1 düzeylerine etkisini araştırmaktır. Sigaranın periodontal doku sağlığı üzerine olumsuz etkisi olabileceğinden hastalar sigara içen ve içmeyen olarak iki gruba ayrıldı. Her bir grupta MMP-1 polimorfizminin periodontal doku sağlığı üzerine etkisi araştırıldı. Ayrıca, DOS MMP-1 ve TIMP-1 total miktar ve konsantrasyonlarının, MMP-1/TIMP-1 oranının klinik parametrelerle ilişkisi ve sağlıklı, orta ve şiddetli periodontitis teşhisi konulmuş gruplar arasında kıyaslaması yapıldı. Sigara içen ve içmeyen bireyler arasında klinik periodontal ve biyokimyasal parametreler karşılaştırıldı. Matriks metalloproteinaz-1 in -1607 bölgesindeki 1G ve 2G “allel”lerinin MMP-1 ve TIMP-1 total miktar ve konsantrasyonlarına etkisi değerlendirildi. Ayrıca, periodontal hastalık şiddetinin bu enzimlere etkisi olabileceğinden sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi konulmuş bireylerde polimorfizmin enzim düzeylerine etkisi ayrı ayrı değerlendirildi.

## 2. LİTERATÜR BİLGİ

### 2.1.1. Periodontal Hastalık

Periodontal hastalık, dişi destekleyen dokuların kaybı ile karakterize bir enfeksiyondur (Flemmig, 1999). Sağlıklı periodonsiyum periodontal hastalığın gelişmesiyle birlikte mevcut klinik özelliklerini kaybeder. Hastalığın klinik bulguları; dişetinde enflamasyona bağlı olarak gelişen renk, kıvam, şekil ve yüzey özelliklerinde (stiplingler) değişim, sondlamada kanama, periodontal cep formasyonu ve/veya dişeti çekilmesi ile birlikte görülen ataşman kaybı, buna bağlı olarak gelişen mobilite ve diş kaybıdır.

Hastalıkta histopatolojik olarak periodontal cep oluşumu, birleşim epitelinin mine-  
sement sınırından daha apikalde konumlanması, dişin etrafındaki kollajen dokuda yıkım ve kemik kaybı gözlenir. Birleşim ve cep epiteline çok sayıda polimorfonükleer lökosit (PMNL)'ler, lenfositler, makrofajlar ve plazma hücreleri infiltre olmuştur.

Periodontitisin etiyolojisinde en önemli etken bakteriyel dental plaktır. Periodontitisle doğrudan ilişkili olan dental plak içinde pek çok bakteri bulunan, diş yüzeyine tutunmuş kompleks bir özellikte olan mikrobiyal biyofilm olarak tarif edilebilir. Bu bakterilerin arasında *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*Aa*), *Tannerella forsythensis* (*T. forsythensis*), spiroketler, *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *Camphylobacter rectus* (*C. rectus*), *Eubacterium nodatum* (*E. nodatum*), *Treponema denticola* (*T. denticola*), *Streptococcus intermedia* (*S. intermedia*), *Prevotella nigrescens* (*P. nigrescens*), *Peptostreptococcus micros* (*P. micros*), *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) ve *Eikenella corrodens* (*E. corrodens*) sayılabilir. Duyarlı bir bireyde pek çok şüpheli periodontopatojen hastalığı başlatma ve sürdürme gücüne sahip görünmektedir (Flemmig 1999, Haake 1996).

Periodontitis Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından 1999 yılında, kronik (KP), agresif (AgP) ve sistemik hastalığa bağlı olarak gelişen periodontitis olarak sınıflandırılmıştır (Armitage, 1999).

### **2.1.2. Periodontitisin Etiyolojisi ve Patogenezi**

Periodontitisin etiyojisini aydınlatmaya yönelik çalışmalar mikrobiyolojinin gelişmeye başladığı 1880-1920'li yıllara kadar uzanmaktadır. Periodontal hastalıkların bakteriler tarafından oluşturulduğu fikri ilk olarak 1882 yılında Witzel tarafından ileri sürülmüş ve 1890 yılında Miller "Micro-organisms of the human mouth" isimli yayınında ağız boşluğundaki bakterileri sınıflara ayırmış ve bu bakterilerin çürüklere ve periodontal hastalıklara yol açtığını bildirmiştir (Gold, 1985). Buna karşın yapılan ilk çalışmalarda periodontitisin okluzal travma, kullanılmama atrofisi, yapısal bir defekt veya bunların bir kısmının birlikte bulunmasından kaynaklandığı, mikroorganizmaların ise periodontal doku yıkımına daha sonra dahil oldukları veya katkı sağladıkları kabul ediliyordu. Hastaların tedavisinden istenilen sonuçların alınamaması ve klinisyenlerin periodontal hastalığın tedavisinin başarısı için plak kontrolünün ne kadar önemli olduğunu fark etmeleri mikroorganizmaların periodontal hastalığın etiyojisindeki önemini ortaya koymuştur. "Plak evangelistleri" adı verilen bir grup klinisyen 1950'li yılların ortalarında periodontal hastalıktan korunma ve tedavisinde plak kontrolünün önemini vurgulamaktaydı (Socransky ve Haffajee, 2003). Miller tarafından ortaya atılan "non-spesifik plak hipotezi" ne göre dental plak içerisinde bulunan tüm mikroorganizmaların eşit şekilde periodontal hastalığa sebep olabildiği ve periodontitisin dental plak miktarının artışı ile ilişkili olduğu kabul ediliyordu (Gold, 1985). Bu hipoteze göre vücut az miktardaki plaktan salınan zararlı ürünlere karşı koyabilmekte, plak miktarı ve buna bağlı olarak ortaya çıkan zararlı ürünler arttıkça vücut savunması yetersiz kalmakta ve periodontal hastalık gelişmekteydi. Ancak, yapılan gözlemler bu sonuçla çelişmekteydi. Öncelikle ağızda diştaşı ve mikrobiyal dental plak yoğunluğu fazla olan bazı bireylerde

gingivitisin periodontitise dönüşmediği bilinmektedir. Ayrıca, periodontitis teşhisi konulmuş bireylerde periodontal hastalığın şiddeti ağzın her yerinde aynı değildir; bazı bölgelerde şiddetli ataşman kaybı gözlenirken bazı bölgeler hastalıktan etkilenmeyebilir. Bu bulgular mikrobiyal dental plağın değişik patojenik potansiyelleri olabileceğini düşündürmüştür. Walter Loesche 1976 yılında “spesifik plak hipotezi”ni ortaya atmıştır. Bu hipotez plağın patojenitesinin içinde bulunan birtakım spesifik mikroorganizmaların varlığına ve bunların sayılarının artmasına bağlı olduğunu ileri sürmektedir (Socransky ve Haffajee, 2003).

Periodontal hastalıkların başlaması ve ilerlemesinde primer etiyolojik ajan olarak kabul edilen mikrobiyal dental plağın yaklaşık 1 mg ağırlığında ve 1mm<sup>3</sup> hacminde 500 farklı türde 10<sup>8</sup> mikroorganizma içermektedir (Haake, 1996). Dental plağın gelişimi üç safhada incelenmektedir; dental pelikülün oluşması plak oluşumunun ilk safhasını oluşturmaktadır. Temizlendikten hemen sonra ağız içindeki tüm yapılar glikoprotein içerikli pelikül ile kaplanmaya başlar. Yumuşak dokular sürekli alttan gelen yeni dokularla yenilendikleri ve yüzey kısımları döküldüğü için bakteriler yoğun bir kolonizasyon gösteremezler. Fakat diş yüzeylerinde böyle bir yenilenme söz konusu olmadığı için pelikül bakterilerin tutunacağı ve mikrobiyal dental plağı oluşturmak üzere çoğalacakları bir yapı görevi görmektedir. İkinci aşama bakterilerin diş yüzeyinde kolonize olmaya başlamaları sürecidir. Birkaç saat içinde bakteriler dental pelikül içinde belirir. Bunlar genellikle *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus sangius* gibi gram-pozitif fakültatif bakterilerdir. Zamanla bakterilerin sayısı ve çeşitleri artar ve bir biyofilm haline gelirler. Biyofilm diş yüzeyinde polisakkarit bir matriks içerisinde pek çok bakterinin birlikte bulunduğu ve yaşadığı yapı olarak tarif edilebilir. Bu biyofilmde başlangıçta gram-pozitif aerob bir flora baskınken zamanla gram-negatif anaerob bir flora üstünlük kazanır. Plak gelişiminin son safhasını ise “ikincil yığılım” ve plak olgunlaşması oluşturur. İkincil yığılımı oluşturan türler pelikül yüzeyine tutunamayan ancak pelikülda bulunan diğer bakterilere tutunabilen *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *P. intermedia* gibi türlerdir.

Bakterilerin bu şekilde birbirine tutunmasına “coagregasyon” ismi verilmektedir (Haake, 1996).

Bir bakterinin hastalığa sebep olabilmesine olanak tanıyan özelliklerine “virulans faktörleri” denilmektedir. Bu özellikler bakterinin yığılımını, konağa girişini, yayılmasını ve bakterinin konak dokularında direkt ve indirekt olarak hasar oluşturabilmesini sağlar (Haake, 1996). Konak şüpheli periodontopatojenlere karşı savunmaya geçer. Öncelikle dişeti, sulkuler ve birleşim epiteli bir bütünlük içindedir ve mikroorganizmaların ve ürünlerinin periodontal dokulara geçişini önlemek üzere koruyucu olarak görev yapar. Dişeti oluşu sıvısının akışı ve içeriği, salya akışı ve salyanın yıkama, temizleme, tamponlama, mikroorganizmalar üzerine etkisi diğer bir savunma aracıdır. Savunma hücreleri olan PMNL’ler dişeti oluşundan ağza doğru göç eder ve bazen bu hücreler orogranüositler olarak adlandırılır ve vücut savunmamızın ilk cephesini oluşturur (Nisengard ve ark, 1996). Sağlıklı bir periodonsiyumda denge halinde bulunan mikrobiyolojik ve konağa ait faktörlerin ve bakterilerin sayısı veya çeşitliliğindeki değişimler veya konağın savunmasında ortaya çıkan birtakım sorunlar sebebiyle bakteriler lehine bozulması periodontal doku yıkımı ile sonuçlanır (Listgarten, 1985).

Periodontal hastalığın gelişimi ile birlikte periodontal dokularda patolojik değişimler başlar. Öncelikle dişeti kenarında mikrobiyolojik birikim ile enflamasyon gelişir. Ortalama, 4-7 gün içerisinde bağdokusundaki kollajenin yaklaşık olarak %70’i yıkılır (Carranza ve ark, 2002). Plak birikiminden sonra her zaman gingivitis gelişmektedir, periodontitis gelişiminde birinci aşama gingivitis oluşumudur; fakat her gingivitis periodontitise dönüşmez ve yıllarca ataşman kaybı gözlenmeden gingivitis aşamasında kalabilir. Gingivitisin periodontitise dönüşmesinde etkili olan konağa bağlı faktörler daha sonra incelenecektir. Periodontitisin gelişimi ile birlikte periodontal dokuda hücreler arası yapı “extracellular matrix” yıkılmaya

başlar. Mevcut dokunun yıkılmasında MMP'ler, serbest oksijen radikallerinin salınması ve doku bileşenlerinin fagositozu etkili olmaktadır (Bartold ve Narayanan, 2006).

### 2.2.1. Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar hücre dışı doku "extracellular matrix" makromoleküllerinin büyük kısmını yıkabilen nötr, metale bağımlı endopeptidaz grubudur. Bu enzimler genel olarak büyük benzerlikler gösterebilirler de etki gösterdikleri substratlarının ve transkripsiyon regülasyonlarının farklı olması nedeni ile birbirlerinden ayrılmaktadırlar. MMP'ler yapısal ve fonksiyonel karakteristikleri açısından en az altı alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar: 1) kollajenazlar, 2) tip IV kollajenazlar (jelatinazlar), 3) stromelisinler, 4) matrilisinler, 5) membran tip MMP'ler (MT-MMP) ve 6) diğer MMP'ler dir. MMP'ler nötr pH da aktiftir, aktivitelerini gösterebilmeleri için "Ca<sup>++</sup>" gerekir ve aktif bölgelerinde "Zn<sup>++</sup>" içerirler (D'Alonzo ve ark, 2002). Tüm MMP'ler beş ana düzenleyici parçanın birleşimi veya bazılarının olmamasına bağlı olarak farklılık gösterirler. Küçük bir sinyal sekansını bir propeptid bölgesi, katalitik latensi bölgesi, enzimin aktif kısmını içinde bulunduran katalitik kısım, prolinden zengin bir bağlantı bölgesi ve peksin benzeri terminal karboksil (COOH) bölgesi takip etmektedir. Bunlara ek olarak iki jelatinaz katalitik bölgede jelatin bağlanma bölgesi içermektedir. Her bir enzim aktif bölgeyi oluşturduğu sanılan üç dişli "Zn<sup>++</sup>" bağlanma bölgesi içerir. En küçük MMP olan matrilisin'de ise peksin benzeri bölge bulunmamaktadır (Birkedal, 1993).

Matriks metalloproteinaz ailesinin yirmialtı üyesinden sadece yedi tanesi tip I kollajen fibrillerini yıkabilmektedir. Bunlar: fibroblast tip kollajenaz (FİB-KL veya MMP-1) ve polimorfonükleer lökosit tip kollajenaz (PMNL-KL veya MMP-8), MMP-13, MMP-18, MMP-2, MMP-9 ve MMP-14'dür (Uitto ve ark 2003). Matriks metalloproteinaz -8 geni sadece PMNL'de eksprese olurken buna yüksek miktarda benzerlik gösteren MMP-1 geni fibroblastlar, keratinositler, endotel hücreleri, monositler, makrofajlar, osteoblastlar ve

kondrositlerde “eksprese” olur. Yüksek miktarda glikolize olmuş PMNL kaynaklı kollajenazın MMP-1’e göre molekül ağırlığı daha fazla olmasına karşın (Mr 75000’a karşı. 57000/52000) molekül büyüklükleri eşittir (Birkedal, 1993). Bu iki kollajenaz transkripsiyonlarının düzenlenmesi açısından farklılık göstermektedir. Matriks metalloproteinaz -8, PMNL’lerde depo edilmiştir ve uyarıldıklarında bu hücrelerin granülozomlarından salınırlar. Matriks metalloproteinaz -1 ise büyüme faktörü veya sitokinler tarafından uyarıldıklarında ilgili hücreler tarafından sentezlenmektedir ve uyarı geldikten yaklaşık olarak 6-12 saat sonra hücre dışında saptanabilmektedirler.

Jelatinazlar veya tip IV kollajenazlar tip IV, V, VII, ve X kollajeni elastin ve fibronectini parçalayabilmektedir. Jelatinaz A (MMP-2) ve Jelatinaz B (MMP-9) olmak üzere iki çeşidi vardır. Molekül ağırlığı 72-kDa olan MMP-2 TIMP-2 tarafından, molekül ağırlığı 92 kDa olan MMP-9 ise TIMP-1 tarafından baskılanmaktadır (D’Alonzo, 2002).

Stromelisin-1 ve stromelisin-2 proteoglikanların kor proteinleri, tip IV ve tip V kollajen, fibronectin, denatüre tip I kollajen ve laminini içeren bir molekülü parçalayabilmektedirler. Stromelisin-3 enzimi meme kanseri hücrelerinden ve embriyonik fibroblastlar tarafından üretilmektedir ve tam fonksiyonel bir metalloproteinazdır. Matrilisin fibronectin, laminin ve jelatini içeren moleküllerin yıkımına neden olur. Makrofaj metalloelastaz hakkında ise elastini parçalama özelliği dışında literatürde çok fazla bir bilgi yoktur (Birkedal, 1994).

Matriks metalloproteinazların bir çoğu salgılanırken yeni keşfedilen bir alt grubu MT-MMP hücre membranına bağlı olarak bulunmaktadır. Bu proteazlar bir transmembran parça ve birde hücre dışı katalitik kısımdan oluşmaktadır. Bu MMP’ler hücre içinde furin ve furin benzeri proteazlarla aktive olabilirler ve Arg-Arg-Lys-Arg 111 aminoasit dizisinin tanınması ile görevlidirler. Bu güne kadar altı tane MT-MMP tanımlanmıştır (D’Alonzo, 2002).

Tablo 1.1. Matriks metalloproteinazlar, matriks substratları, biyoaktif substratı ve aktivitesi

<b>Proteaz</b>	<b>MMP numarası</b>	<b>Matriks substratı</b>
Kollajenaz-1	MMP-1	Kollajen tipleri III>I>II,VII,X Jelatin Entaktin Agrekan Tenaskin Bağlantı proteinleri
Kollajenaz-2	MMP-8	Kollajen tipleri I>II>III>VII,X Jelatin Entaktin Tenaskin Agrekan
Kollajenaz-3	MMP-13	Kollajen tipleri II>III>I>VII,X Jelatin Entaktin Tenaskin Agrekan
Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen tipleri I,II,III Jelatin
Jelatinaz-A	MMP-2	Denatüre kollajenler (jelatin) Elastin Fibronektin Kollajen tipleri I,IV,V,VII,X,XI Laminin-5 Agrekan Brevikan Nörokan BM-40 Vitronektin $\alpha$ 2-makroglobulin
Jelatinaz-B	MMP-9	Denatüre kollajenler (jelatin) Elastin Fibronektin Kollajen tipleri I,IV,V,VII,X,XI Laminin Agrekan Vitronektin Link protein

<b>Proteaz</b>	<b>MMP numarası</b>	<b>Matriks substratı</b>
MT1-MMP	MMP-14	Kollajen tipleri I,II,III Jelatin Fibronektin Vitronektin
MT2-MMP	MMP-15	Proteoglikan
MT3-MMP	MMP-16	Kollajen tip III Fibronektin
MT4-MMP	MMP-17	Jelatin Fibrin Fibrinojen
MT5-MMP	MMP-24	Fibronektin Proteoglikanlar Jelatin
MT6-MMP	MMP-25	Jelatin Kollajen tip IV Fibrin Fibronektin Laminin-1 Proteoglikanlar
Stromelisin-1	MMP-3	Agrekan Laminin Fibronektin Kollajenin Üçlü heliks yapısı Göstermeyen kısımları Tip II,III,IV,V,IX,X,XI Jelatin Entaktin Tenaskin Vitronektin Fibrin/fibrinojen Link protein Elastin
Stromelisin-2	MMP-10	
Stromelisin-3	MMP-11	Agrekan Laminin Fibronektin
Matrilisin	MMP-7	Agrekan Laminin Fibronektin Kollajenin Üçlü heliks yapısı Göstermeyen kısımları Tip II,III,IV,V,IX,X,XI Jelatin Entaktin Tenaskin Vitronektin Fibrin/fibrinojen

<b>Proteaz</b>	<b>MMP numarası</b>	<b>Matriks substratı</b>
Matrilisin-2	MMP-26	Kollajen tip IV Jelatin Fibronektin Fibrinojen
Metalloelastaz	MMP-12	Elastin Fibronektin Fibrin/fibrinojen Laminin Proteoglikan Jelatin Vitronektin Myelin basik protein
RASI Stromelisin-4	MMP-19	Jelatin Fibronektin Tenaskin Kollajen tip IV Laminin Entaktin Fibrin/fibrinojen Agrekan COMP
Enamelisin	MMP-20	
XMMP	MMP-21 MMP-22 MMP-27	
CA-MMP	MMP-23A,B	Jelatin
Epilysin	MMP-28	

### **2.2.2. Matriks Metalloproteinazların Aktivitesinin Düzenlenmesi**

Matriks metalloproteinazların hücreler arası yapının yıkımına karşı görevlerinin düzenlenmesi; 1) matriks metalloproteinaz genlerinin transkripsiyon aktivitesinin düzenlenmesi, 2) prekürsör aktivasyonunun düzenlenmesi, 3) substratlarının farklı olmaları ve 4) matriks metalloproteinaz inhibitörleri ile gerçekleşmektedir (Birkedal, 1993).

Çoğu MMP geninin transkripsiyonu endojen büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından düzenlenmektedir. Sitokin veya büyüme faktörleriyle uyarılan MMP geninin mRNA ve protein düzeylerinde 50 katlık bir değişime sebep olduğu bilinmektedir. Kollajenaz

(KL) ve stromelisin (SL)-1 genlerinin transkripsiyonlarının interlökin (IL)-1  $\beta$  tümör nekroz faktör(TNF)- $\alpha$ , trombosit kaynaklı büyüme faktörü “platelet derived growth factor” (PDGF), epidermal büyüme faktörü “epidermal growth factor” (EGF), bazik fibroblast büyüme faktörü “basic fibroblast growth factor” (bFGF), sinir büyüme faktörü “nerve growth factor” (NGF) tarafından aktive edildiği ve transforme olabilen büyüme faktörü “transforming growth factor” (TGF)- $\beta$ , interferon (IFN)- $\gamma$  ve IL-4 tarafından baskılandığı bilinmektedir (Domeij ve ark, 2002, Birkedal, 1994). İnterlökin-6'nın ise fibroblast kültürü üzerinde çözünebilir “soluble” IL-6 reseptörü (sIL-6r) ile birlikte bulunması durumunda MMP-1 sentezini arttırdığı TIMP düzeyinde bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir (Irvin ve ark, 2002). Transforme olabilen büyüme faktörü- $\beta$  kollajenazları ve SL-1'i baskılayarak jelatinazların sentezini 2-4 kat arttırmaktadır. Hücreler arasındaki dengelerin anabolik veya katabolik yönde eğilim değiştirmesi bir dizi genin koordinasyonu ile olmaktadır. Bu dengede MMP genlerinin düzenlenmesi basamaklardan sadece birisini oluşturmaktadır. Ancak, osteoklastik aktiviteyi ve MMP aktivitesini kontrol eden sitokinlerin aynı olması ilginçtir. “Transforme olabilen büyüme faktörü- $\beta$ ” ailesinin üyeleri stroma depozisyonunu artırır ve MMP genlerini baskılar. Proenflamatuvar sitokinler olan IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ise osteoklastik aktiviteyi arttırmakta ve MMP genlerini uyarmaktadırlar (Birkedal, 1993).

Bazı mediyatörler MMP genlerinin aktivitesini hücrelere özgü düzeyde etkilemektedir. Örneğin, MMP-1'in artışı osteoblastlarda paratiroid hormonu ve 1,25-di(OH)D<sub>3</sub> ile, makrofajlarda ise lipopolisakkaritler ile gerçekleşmektedir. Prostaglandin'ler, özellikle de PGE<sub>2</sub> makrofajlar ve kemik hücrelerinde döngüsel “cyclic”AMP yolu ile katabolik etki göstermektedir. Prostaglandinler makrofajlar üzerinde şiddetli etki gösterirken vücut hücrelerini çok fazla etkileyememektedirler. Glukokortikoidler MMP ailesini baskılayarak antiinflamatuvar özelliklerini göstermektedirler. Retinoidler ise vücut hücrelerinde MMP

aktivitesini baskılarken kemik ve kıkırdak doku yıkımını ve keratinosit aracılı kollajen yıkımını arttırmaktadırlar (Birkedal, 1993).

Matriks metalloproteinaz prekürsörlerinde enzimin aktif kısmı olan “Zn<sup>++</sup>” ile sistein arasında bir bağ bulunmaktadır ve bu bağın çözülmesiyle enzim aktif hale geçer. Plazminojen aktivatörlerinin tripsin ve katepsinlerin bu reaksiyonda rol aldıkları bilinmektedir.

Matriks metalloproteinazların dokulardaki aktivitesi plazma kaynaklı proteinaz inhibitörleri ( $\alpha$ -makroglobulinler) veya TIMP’lar tarafından kontrol edilmektedir. TIMP’lar içinde fibroblastlar, keratinositler, makrofajlar, ve endotel hücrelerinin de bulunduğu bir çok hücre tarafından üretilmektedir. Ayrıca, aktif ve bazende pasif halde bulunan MMP molekülleri ile non-kovalent yapılar oluşturarak etkilerini gösterirler. Genetik olarak TIMP’lerin üç farklı türü tespit edilmiştir, ancak daha fazla alt grupları bulunabilir. TIMP-1 ve TIMP-2 yapısal olarak birbirlerine benzemelerine karşın etkiledikleri MMP’ler yönünden birbirlerinden ayrılmaktadırlar. TIMP-1 MMP-1’i baskılarken, TIMP-2 tip IV kollajeni yıkan kollajenazları baskılamaktadır. TIMP-1’in ekspresyonu, (EGF, IL-1, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) gibi çeşitli büyüme faktörleri forbol esterleri, retinoidler, glukokortikoidler tarafından arttırılmakta iken TIMP-2 TGF- $\beta$  tarafından azaltılır ve forbol esterlerine cevap vermez. Aktif haldeki MMP’ler geniş spektrumlu plazma proteinaz inhibitörleri olan  $\alpha$ -makroglobulinler tarafından yakalanırlar.  $\alpha$ -makroglobulinler damarsal proteinaz inhibitörleri olmalarına karşın enflamatuvar durumlarda damar dışına da çıkmaktadırlar ve DOS’ta değişik konsantrasyonlarda tespit edilmişlerdir.  $\alpha$ -makroglobulinler MMP’lerin aktif kısmındaki bir bağı bozarak enzimi etkisiz hale getirmektedirler (Birkedal, 1994).

### **2.2.3. Klinik Bulgular**

Matriks metalloproteinazların periodontal dokulardaki ve DOS’daki varlığı pek çok araştırmacı tarafından çeşitli metodlarla incelenmiştir (Villela ve ark 1987). Dişeti oluğu sıvısı dişeti sulkusundan veya periodontal cepten filtre kağıtları veya kapiller tüpler yardımı ile

toplanabilen bir eksudadır. Dişeti oluğu sıvısı kapiller damarlardaki sıvının iltihaplı periodontal dokulara oradan da dişeti sulkusuna veya periodontal cebe sızması ile oluşur. Akut iltihabi sıvının iltihaplı dokulardan geçerken hücre ve doku yıkım ürünlerinin yanı sıra enzimleri ve doku yıkımında görev alan molekülleri içerisine kattığı düşünülmektedir. Bunlardan dolayı DOS'un aktif doku yıkımının belirlenmesinde önemli bir rol oynayacağı düşünülmektedir (Page, 1991).

Sağlıklı ve periodontitis teşhisi konulmuş bireylerden alınan DOS örneklerinde MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri incelenmiş, periodontal hastalıkta MMP-1 düzeyi artarken TIMP-1 miktarının azaldığı, başlangıç tedavisi sonrası altıncı haftada enzim düzeylerinin sağlıklı bireylerdeki sınırlarına yaklaştığı tespit edilmiştir (Tüter ve ark 2002). Dahan ve ark. (2001) sağlıklı ve periodontitis teşhisi konulmuş bireylerden alınan dişeti biopsilerinde MMP-1, MMP-2 ve MT1-MMP mRNA “ekspresyon”larını incelemiş ve MMP-1 mRNA ekspresyonunun sadece periodontitisli örneklerde tespit edilebildiğini, MMP-2 ve MT1-MMP mRNA “ekspresyon”ları açısından sağlıklı ve hastalıklı dokularda önemli bir farklılık gözlenmediğini rapor etmiştir. Ayrıca, fibroblastların *E. corrodens* ile enfekte edilmesi sonucu ise MMP-2 mRNA'sının “ekspresyonunun” üç kat artmasına karşın, diğer mRNA “ekspresyon”larında değişiklik olmadığını bildirmişler ve sonuç olarak gingival fibroblastların periodontopatojenler ile karşılaşmaları sonrasında DOS MMP-2 düzeylerindeki artıştan sorumlu olabilecekleri sonucuna varmışlardır. Sağlıklı ve periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde yapılan bir çalışmada periodontitiste DOS'da MMP-8 ve MMP-13'ün arttığı görülmüş, aynı hastalarda MMP-8'in PMNL'ler sulkuler epitel ve plazma hücrelerinde bulunduğu MMP-13'ün ise sulkuler epitel ve makrofaj benzeri hücrelerde yoğunlaştığı bildirilmiştir (Kiili ve ark 2002). Alpagot ve ark (2001) kırk hasta üzerinde altı aylık bir takip ile yaptıkları çalışmada, periodontal doku yıkımı olan bölgelerde MMP-3 ve TIMP-1 düzeyinin, sağlıklı bölgelere göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Özellikle, MMP-

3'ün yüksek olduğu bölgelerde gelecekte ataşman kaybı gözlenme riskinin yüksek olduğunu ve gelecekte görülebilecek ataşman kaybının MMP-3, TIMP-1, sigara kullanım miktarı ve yaş faktörleri değerlendirilerek %59 oranında doğru tahmin edilebileceğini saptamışlardır. Transamidaz ve kollajenazın aktivitesinin sağlıklı ve periodontitisli ve iyileşmekte olan dokulardan alınan biopsi örneklerinde değerlendirildiği bir çalışmada enzimlerin her ikisinin de tüm dokularda tespit edilebildiği ve periodontitiste transamidaz aktivitesinin sağlıklı örneklerden yaklaşık olarak iki kat, kollajenaz aktivitesinin ise üç kat fazla olduğu tespit edilebilmiştir. İyileşmekte olan dokularda ise enzim miktarları sağlıklı ve periodontitisli gruplar arasında yer almıştır (Robinson ve ark 1992). Matriks metalloproteinaz-8, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 düzeylerinin ve aktif-pasif formlarının değerlendirildiği bir çalışmada 4 mm den daha derin periodontal ceplerde MMP aktivitelerinin arttığı, tedavi sonrasında ise azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca, kontrol grubunda tespit edilen MMP-8'in genellikle 69 kDa ağırlığında kısmen aktif tür olduğu periodontitisli hastalardan izole edilenin ise 56 kDa ağırlığında olan ve pro-aktif tür olarak bilinen MMP-8 çeşidi olduğu bazı bireylerde de daha nadir olarak 85 kDa'luk latent formun tespit edildiği, TIMP-1 ve 2'nin tedavi sonunda artış gösterdikleri bildirilmiştir (Pozo ve ark 2005). Faz 1 periodontal tedavinin DOS MMP-3 ve TIMP-1 düzeyleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada faz 1 tedavi sonrasında MMP-3 düzeyinin azaldığı, TIMP-1 düzeyinin ise arttığı tespit edilmiştir (Tüter ve ark 2002). Faz 1 periodontal tedaviye ek olarak düşük doz doksisisiklin uygulamasının MMP-8, MMP-9, TIMP-1 ve IL-6 düzeylerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada faz 1 tedaviye ek olarak (20 mg bid) düşük doz doksisisiklin kullanılan grupta MMP-8 düzeyinde 120 gün sonunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gözlenmiş, MMP-9 miktarlarında tedavi başlangıcı ve sonu veya gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamış, IL-6 düzeylerinde tedavi öncesine göre tedavi sonunda bir azalma gözlenmesine karşın gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir. TIMP-1 düzeyleri ise tedavi sonrasında her iki grupta da artış göstermesine karşın gruplar arasında

tedavi başlangıcı ile sonu arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Choi ve ark 2004). Başlangıç tedavisine ek olarak yerel klorheksidin uygulamasının MMP-8 düzeyleri üzerine etkisinin incelendiği bir araştırmada başlangıç tedavisine ek olarak yerel klorheksidin uygulamasının altı aylık bir süre içinde MMP-8 düzeyini azalttığını, gruplar arasında ise birinci ayda MMP-8 düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık olduğunu daha sonraki aylarda bu farkın istatistiksel önemini kaybettiği bulunmuştur (Azmak ve ark 2002). Sigara kullanan ve kullanmayan hastaların DOS MMP-8 düzeyleri 12 ay boyunca takip edilmiş, faz 1 periodontal tedavi sonrasında tüm klinik parametrelerde iyileşme ve DOS MMP-8 düzeylerinde azalma olduğu gözlenmiş, sigara kullanan hastalardaki ortalama MMP-8 düzeyinin sigara kullanmayan hastalara göre daha düşük olmasına karşın sigara içen ve içmeyen hastalarda ataşman kaybı gözlenen bölgelerdeki enzim düzeylerinin benzer olduğu görülmüştür. Aşırı derecede yüksek olarak tespit edilen MMP-8 düzeylerinin sigara kullananlarda yoğunlaştığı ve bu bölgelerdeki enzim düzeylerinin tedavi sonrasında da azalmadığı bu tür bölgelerin tespitinde MMP-8 düzeyinin belirlenmesinin gelecekte oluşabilecek ataşman kaybının tespiti açısından faydalı olabileceği bildirilmiştir (Mantyla ve ark 2006). İmplantasyon sonrasında implantlar etrafında ve periimplantitiste MMP-1, MMP-8 ve TIMP-1 ve kollajenaz düzeylerindeki değişimler DOS'ta değerlendirilmiş, TIMP-1 düzeyinin implantasyon sonrasındaki ilk haftada en yüksek değere ulaştığı ve giderek azalarak dördüncü haftada sağlıklı bireylerde gözlenen düzeye geri döndüğü, kollajenaz aktivitesi, MMP-1, MMP-8 düzeylerinin ilk haftada 2, 4, 12. haftalara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Periimplantitiste TIMP-1/MMP-1+ MMP-8 oranının periodontitise göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar ilk haftadaki yüksek TIMP-1 seviyesinin yeni oluşmakta olan dokuları kollajenazların yıkıcı etkisinden koruduğu sonucuna varmışlardır (Nomura ve ark 2000). Periimplantitis teşhisi konulmuş hastalardan alınan implant çevresi sulkuler sıvıda clodronat'ın MMP-1 ve MMP-8'i baskılama etkisi incelenmiş ve MMP-8'in *in*

*vitro* clodronate uygulamasından sonra önemli oranda baskılandığı bu ilacın periodontal hastalıkların tedavisinde bir öneminin olabileceği sonucuna varılmıştır (Teronen ve ark 1997). Matriks metalloproteinaz ailesinin son katılan üyeleri olan MT-MMP-25 ve MT-MMP-26'nın da DOS daki miktarları sağlıklı, gingivitis, kronik periodontitis ve agresif periodontitis teşhisi konulan hastalarda değerlendirilmiştir. Araştırmacılar sağlıklı bireylerde MT-MMP-25'in saptanmadığını, kronik, agresif periodontitis ve gingivitis grubu bireylerde MT-MMP-25'in tespit edildiğini bildirmişlerdir. Membran tip matriks metalloproteinaz -26 ise tüm örneklerde gözlenmiş ve gözlenme oranının ise iltihabın şiddeti ile arttığı rapor edilmiştir (Emingil, 2006).

#### **2.2.4. *In vitro* Çalışmalar**

Literatürde, dişeti dokusu hücrelerinden oluşturulan hücre kültürü ortamlarında MMP düzeyleri çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir (Ejeil ve ark 2003, Irwin ve ark 2002, Jenkins ve ark 2004).

Dişeti hücrelerindeki MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-2 düzeylerinin üç günlük kültür işleminden sonraki miktarlarının değerlendirildiği bir araştırmada sağlıklı, hafif iltihaplı, orta şiddette iltihaplı ve şiddetli iltihaplı dişeti örnekleri “dot blotting”, “western blotting” ve “zymografi” yöntemleri ile değerlendirilmiş sonuç olarak iltihabın şiddetiyle doğru orantılı olarak MMP-1, MMP-9, MMP-13 oranlarının arttığı MMP-2'nin aktif formunun, MMP-9 un ise aktif ve proformlarının miktarlarının arttığı tespit edilmiştir. Aynı hastalardan alınan doku örneklerinde kollajen doku miktarları değerlendirilmiş; sağlıklı dokularda %53 olan oran iltihabın şiddetiyle giderek azalarak şiddetli iltihaplı dokularda %35'e kadar düşmüştür (Ejeil ve ark 2003). Fibroblast kültürlerinde IL-6 ve sIL-6r'nin MMP-1 ve TIMP-1 üzerine olan etkileri 0-1000ng/ml doz aralığında incelenmiş, IL-6'nın kendi başına MMP-1 düzeyini etkilemediği fakat sIL-6r'nin ilavesiyle doza bağımlı bir şekilde MMP-1 düzeyinde artış olduğu TIMP-1'in ise ne IL-6 ne

de IL-6 ve sIL-6r'nin birlikte ortama eklenmesinden etkilenmediği tespit edilmiştir (Irwin ve ark 2002). Matriks metalloproteinaz-1'in üretiminin IL-1 tarafından arttırıldığı bilinmektedir. Hücre kültüründe yapılan bir çalışmada araştırmacılar MMP-1 üretimini IL-1 ile uyarılmış, diğer bir gruba ise IL-4 ve IL-1 birlikte uygulamışlardır. Sonuçta, IL-4'ün IL-1'in MMP-1'i arttırıcı etkisini doza bağımlı şekilde ortadan kaldırdığını görmüşlerdir (Jenkins ve ark 2004). Bakteriyel dental plaktaki MMP'lerin incelendiği bir araştırmada MMP-8 ve MMP-9 un fibroblast ve bakteriyel kaynaklı MMP'lere göre baskın türler olduğu ve plakta bulunan diğer proteazların pro-MMP-8 ve pro-MMP-9 için aktivatör görevi görebileceği, bunlardan dolayı plağın periodontal inflamasyonda PMNL pro-MMP aktivasyonu için depo görevi görebileceği bildirilmiştir (Sorsa ve ark 1995).

### **2.3. Periodontal Hastalıkta Konak Cevabının Önemi**

Klinik gözlemler benzer düzeydeki plak miktarına tüm bireylerin benzer cevaplar vermediğini ortaya koymuştur. Plak birikiminin çok az olmasına karşın şiddetli periodontitis teşhisi konulan bireyler olduğu gibi, plak yoğunluğu artışı ile birlikte çok az ataşman kaybı gözlenen bireyler de mevcuttur (Löe ve ark 1986).

Bireylerin aynı miktardaki plak birikimine verdikleri farklı cevapların deneysel gingivitis yöntemi ile incelendiği bir araştırmada 96 bireye 21 gün süre ile ağızlarının bir tarafı fırçalatılmamış ve birer haftalık periodlarla bireyler plak indeksi, gingival indeks, DOS miktarı ve dişeti kanama indeksi parametreleri değerlendirilerek incelenmişlerdir. Sonuçta bireylerin benzer plak birikimine benzer cevaplar vermedikleri, bir grup bireyin plak birikimine diğerlerinden daha şiddetli cevap verdiği gözlenmiş ve bireyler şiddetli cevap veren ve düşük cevap veren olmak üzere iki gruba ayrılarak değerlendirilmişlerdir. Her iki grup arasında yaş ve cinsiyet açısından önemli bir farklılık tespit edilememiştir. Plak yoğunluğu açısından gruplar arasında hiçbir farklılık gözlenmemiştir. Araştırmanın başlangıcında ve sonunda kontrol bölgesinde dişeti enflamasyonu ve kanama skorları

açısından gruplar arasında bir farklılık gözlenmezken, test bölgesinde hem çalışmanın başlangıcına göre hem de gruplar arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Dişeti oluşu sıvısı miktarları da gruplar arasında anlamlı farklı bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda benzer miktardaki plak düzeyine karşı farklı cevaplar gözlendiği bir kısım insanların diğerlerine göre plak birikimine karşı daha duyarlı oldukları saptanmıştır. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda gruplar arasındaki plak miktarları eşit olmasına karşın DOS miktarları göz önüne alındığında düşük cevap grubunun 14 günden sonra değişmediği, yüksek cevap grubunun ise DOS miktarları giderek artarak 21. günde en üst düzeye ulaştığı görülmüştür (Tatakis ve ark, 2004a,b,c). Loe ve ark (1986) ağız hijyeni alışkanlığı bulunmayan ve benzer miktarda plak ve diştaşı bulunduran 14-46 yaşları arası Sri Lankalı erkekleri 15 yıl boyunca takip etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda hastalığın sabit bir hızda ilerlemediği, %8'lik bir grupta yılda 0.1-1 mm ataşman kaybı olduğu gözlenmiş ve hastalığın hızlı ilerlediği grup olarak tanımlanmış, %81'inin yılda yaklaşık olarak 0.05-0.5 mm ataşman kaybı gösterdiği görülmüş ve bu grup da hastalığın orta hızda ilerlediği grup olarak tanımlanmıştır. Kalan %11'lik bir kısmın ise yılda sadece ortalama 0.05-0.09 mm ataşman kaybı gösterdiği saptanmış ve hastalığın ilerlemediği grup olarak belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmalar periodontal hastalıkların sadece çevresel faktörlerin etkisiyle açıklanamayacağını bireysel genetik faktörlerin de hastalığın ilerlemesinde önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir.

#### **2.4.1. Risk Değerlendirmesi**

Risk, bir bireyin verilen bir süre içerisinde belirli bir hastalığa yakalanma ihtimalidir. Hastalığı geliştirme ihtimali bireyden bireye farklılık gösterir. Buldukları zaman bireyin hastalığı geliştirmesi ihtimalini kuvvetlendiren çevresel, davranışsal ve biyolojik faktörlere "risk faktörleri" denmektedir. Bunlar sebepler zincirinin birer halkasıdır ve hastalığın oluşumuyla direkt ilişkilidir. Risk faktörleri ilgili hastalık üzerine yapılan uzun dönem takip

çalışmalarla belirlenmektedirler. Risk faktörlerine maruz kalma tek bir kere, birkaç kez veya sürekli olarak gerçekleşebilir. Bir faktörün risk faktörü olarak belirlenebilmesi için hastalığın ortaya çıkışından önce buna maruz kalınması gerekmektedir. “Risk determinantları” değiştirilemeyen risk faktörleri olarak bilinmektedir. “Risk indikatörleri” ise “cross sectional” kesitsel çalışmalarda tespit edilmiş fakat uzun dönem “longitudinal” takip çalışmalarla doğrulukları kanıtlanmamış muhtemel risk faktörleridir. “Risk prediktörleri veya markırları” ise kesitsel veya uzun dönem takip çalışmalarla belirlenmiş, kendi başına hastalığa yol açmayan fakat riski arttıran faktörlerdir (Novak ve ark, 2002). Periodontal hastalıkların başlaması ve gelişmesinde etkili olan ajanlar bakterilerdir. Eğer ortamda bakteri yoksa hastalık gelişmeyecektir. Az sayıda bakterinin varlığı ise periodontal hastalığın başlaması için yeterli olmaktadır. Hastalığın ilerlemesinde mikrobiyal dental plağın ağızda bulunmasının ve uzun süre kalmasının büyük bir risk oluşturacağı kesindir.

Agresif periodontitis teşhisi konulmuş hastalarda plak miktarı hastalığın ilerlemesi açısından yanlış bir risk değerlendirmesine sebep olabilir. Burada az miktarda olmasına karşın virülansı yüksek mikroorganizmalar bulunabileceği gibi genetik veya kazanılmış faktörlerden dolayı vücut az sayıdaki mikroorganizmaya çok aşırı cevap veriyor olabilir. Hastalığın kronik formlarında ise bakteriyel ekosistem bireyden bireye hatta dişten dişe farklılık gösterebilmektedir.

Prognozun iyileştirilebilmesi için periodontopatojenlerin elimine edilmesi veya kontrol altına alınması gerekmektedir. Dişhekimi tedavi sırasında ve kontrol seansları boyunca mikroorganizmaları ve mikroorganizmaların yerleşebileceği ortamları ortamdaki uzaklaştırır. Bu işlem gerçekleştikten sonra hastanın sorumluluğu ağız hijyenini sağlamak ve düzenli olarak kontrol seanslarına gelmektir.

Son yıllarda hastalığın ilerlemesini etkileyen bir takım sistemik ve yerel risk faktörleri tanımlanmıştır. Bu risk faktörlerinin tespiti, ortadan kaldırılmaları veya düzeltilmeleri

hastalığın prognozunu olumlu yönde etkilemektedir. Araştırmalar ve klinik deneyimler aşağıda belirtilen faktörlerin hastalığın daha şiddetli olması, daha hızlı ilerlemesi ve tedaviye daha zayıf cevap vermesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu etkenler periodontal hastalığa yol açmamalarına karşın bireyin hastalığa verdiği yanıtı etkilemektedirler. Bazı araştırmacılar bunlardan birkaçının birlikte bulunmasının riski önemli oranda arttırdığını savunmaktadırlar (Kornman 2003, Nunn 2003).

**Risk faktörleri:**

Sigara kullanımı

Diabet

Patojenik bakteriler

Mikrobiyal birikintiler

**Risk determinantları:**

Genetik faktörler

Yaş

Cinsiyet

Sosyoekonomik durum

Stres

**Risk indikatörleri:**

İnsan immünyetmezlik virüsü “Human immuno deficiency virus” (HIV) ve kazanılmış immün yetmezlik sendromu “Acquired immuno deficiency syndrome” (AIDS)

Osteoporoz

Dışhekimine gitmeme

**Risk markırları:**

Periodontal hastalık hikayesi

Sondlamada kanama

#### 2.4.2. Sigaranın Periodontal Hastalığa Etkileri

Tütün, Latince ismiyle *Nicotiana tabacum* yüzyıllardır kullanılan keyif verici bir maddedir. Tütün sigara, puro, pipo, nargile gibi pek çok şekilde tüketilebilse de en yaygın kullanılan şekli sigaradır. Sigara dumanında 2000 kimyasal madde tespit edilmiştir ve bunlardan 55 tanesi Uluslararası Kanser Araştırmaları Merkezi tarafından kanserojen maddeler olarak nitelendirilmiştir. Bu zehirli kimyasallardan en çok araştırılanları nikotin, karbon monoksit, tiosiyonat, zift, inter alia, N-nitrosaminler, 4-(metilnitrozamino)-1-(3-pyridyl)-1-butan, çeşitli polisiklik aromatik hidrokarbonlar, radyoaktif polonium ve benzen bileşikleridir (Kuper ve ark 2002).

Sigara kullanımının başta kanser, düşük doğum ağırlığı, akciğer hastalıkları ve kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere pek çok hastalıkla olan ilişkisi bilinmektedir. Her yıl dünyada dört milyon kişinin sigara ve sigaraya bağlı sebeplerden öldüğü, bu rakamın 2020 yılında ise 8.4 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (Kuper ve ark 2002).

Sigara içme alışkanlığı ve periodontitis arasındaki ilişki yaklaşık yarım yüzyıldır bilinmektedir. Ancak, dişhekimliği alanında yakın zamana kadar sigaranın periodontal hastalıklarla olan ilişkisi gözardı edilmekteydi. Günümüzde ise periodontal hastalığın gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir risk faktörü olduğu kabul edilmektedir (Haffajee ve Socransky 2001). Bir çok ülkede yapılan çalışmalarda, sigara içme alışkanlığı olan bireylerde hiç sigara tüketimi olmayan bireylere göre beş ila yedi kat daha fazla oranda şiddetli periodontitis gelişme olasılığı saptanmıştır (Ojima ve ark 2006). Özellikle bu çalışmadan elde edilen bulgular sigara kullanan bireylerde benzer plak miktarına rağmen daha fazla ataşman ve kemik kaybı görüldüğünü, derin cep görülme sıklığının arttığını, daha fazla eksik diş bulunduğunu buna karşın dişeti enflamasyonunun sigara kullananlarda daha az olduğunu ve

sondamada kanama olan bölgelerin sigara kullananlarda daha az bulunduğunu saptamaktadır (Ojima ve ark 2006).

Sigara'nın periodontal tedaviye verilen cevabı da olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Sigara içme alışkanlığı olan bireylerin periodontal tedavi sonrasında periodontal cep derinliklerindeki azalmanın ve ataşman kazancının sigara kullanmayan bireylere göre daha az olduğu ve tedavi sonrası takip döneminde sigara kullananların daha fazla diş kaybettikleri bildirilmiştir (Haffajee ve Sokransky 2001). Sigara içme alışkanlığı olan bireylerin dişeti yapısı sigara kullanmayanlara göre daha kalın kenarlı, fibrötik ve hiperkeratotik görünümündedir. Sigara içme alışkanlığı olan bireylerde ön grup dişlerin palatinalinde ataşman kaybı özellikle arka grup dişlerden daha fazla gözlenmektedir. Periodontal hastalık, sigara içme alışkanlığı olmayan bireylere göre sigara kullanımı sonucunda daha hızlı ve şiddetli ilerler. Ön grup dişlerde dişeti çekilmesi görülür. Yüksek plak düzeyi, diştaşı ve periodontitis arasında ilişki olmayabilir. Genelde hastalık 20-30 yaşlarında başlar ve hızlı ilerler. Sigaranın periodontal dokular üzerinde tespit edilen olumsuz etkilerinin hangi mekanizmalar ile ortaya çıktığı tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Sigaranın etkilerini ağız mikroflorasını değiştirerek, konak cevabını ve periodontal dokuları etkileyerek gösterdiği düşünülmüş ve bu konular üzerinde araştırmalar yoğunlaşmıştır. Cerrahi ile ya da cerrahisiz tedavilerin sigara içme alışkanlığı olanlardaki sonuçları, sigara tüketmeyenlere göre daha olumsuz bulunmuş, hatta tekrarlayan enfeksiyonlarında sigara kullananlarda daha sık karşılaşıldığı rapor edilmiştir (Preber ve Bergstrom 1985, Preber ve Bergstrom 1990).

Sigara bırakıldıktan sonra periodontal doku sağlığına yönelik önemli kazançlar elde edilir. Sigarayı bırakan bireylerin periodontal doku sağlığının hiç içmeyen ve sigara içme alışkanlığı olan bireyler arasında yer aldığı gösterilmiştir. Özellikle sigaranın bırakıldığı ilk haftalarda, dişeti enflamasyonunun daha da kötüleştiği ve fırçalamada kanamaların arttığı

rapor edilmiştir. Yaklaşık bir yıl sonra dişeti dokusunun normal anatomik yapı ve konturuna uygun olarak daha keratinize hale dönüşebileceği saptanmıştır (Haffaje ve Sokransky 2001).

Sigaranın periodonsiyum üzerine yıkıcı etkileri ile ilgili çalışmalarda tüm bilgiler tam olarak netliğe kavuşmamıştır. Sigaranın koroner arter ve plasenta damarlarında olduğu gibi dişetindeki damarlarının da daralmasına neden olduğu ve böylece dişetindeki enflamasyonun maskelendiği bildirilmiştir (Feldman ve ark 1983).

Sigara kullanımının bağdokusu ve kemik üzerine direkt etkileri de olabilir. Sitotoksik maddeler olan nikotin ve onun metaboliti olan cotinin salya, DOS, serum ve idrarda tespit edilmiştir. Bu maddeler epitelyumdan kolayca emilir ve fibroblastları etkilerler (Hanes ve ark 1991).

Yapılan bazı mikrobiyolojik çalışmalar sigara kullanan bireylerde *Aa*, *P. gingivalis* ve *T. forsythensis*' in görülme sıklığının arttığını, periodontal tedavi sonrasında da bu mikroorganizmaların dokulardan daha zor elimine edilebildiklerini bildirmişlerdir (van der Velden ve ark 2003). Bazı çalışmalar ise sigara kullanımı ile plak mikroflorası arasında bir fark tespit etmemişlerdir (Böstrom ve ark 2001).

Konak cevabı periodontal hastalığın ilerlemesinde diğer önemli bir faktörü oluşturmaktadır. Sigara kullanımının konak cevabını iki yol ile etkilediği düşünülmektedir. Bunlar sağlıklı periodontal dokularda yıkıma neden olarak ve enfeksiyon nötralizasyonunda normal konak cevabının bozulması ile gerçekleşmektedir.

Sigara kullananlarda B hücrelerinin normal fonksiyon görmesinde ve antikor üretiminde etkili olan yardımcı lenfositlerin sayısı azalmaktadır. Buna bağlı olarak immunoglobulin (Ig)A ve IgG özellikle IgG<sub>2</sub> düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır (Graswinckel ve ark 2004). Konağın bakterilerle başa çıkabilmesi için nötrofillerin tam olarak fonksiyon görebilmeleri gerekir. Sigara kullanımının tespit edilen en dramatik etkileri nötrofil fonksiyonları üzerine olan etkileridir. Sigara kullanımının nötrofillerin kemotaksis ve fagositoz yeteneklerini

baskıladığı (Güntsch ve ark 2006), nikotine maruz kalan nötrofillerin ise önemli bir antimikrobiyal fonksiyonları olan süperoksit iyonu salgılama yeteneklerinin azaldığı bildirilmiştir (Kanehira ve ark 2006).

Tütün ürünleri periodontal doku yıkımında etkili olduğu bilinen enflamatuvar mediyatörlerin ve sitokinlerin düzeylerini de etkilemektedir. Sigara içen bireylerde nötrofil kaynaklı elastaz ve MMP-8 aktivitesinin arttığı, proteaz inhibitörleri olan alpha-1-antitrypsin ve  $\alpha$ -2-makroglobulin ve doku kaynaklı elastaz düzeylerinin değişmediği bildirilmiştir (Persson ve ark 1999). Dişeti oluğu sıvısı TNF- $\alpha$  düzeylerinin araştırıldığı bazı çalışmalar sigara kullanımının TNF- $\alpha$  düzeylerini arttırdığını (Boström ve ark 1998, Ataoğlu ve ark 2002) bildirirken, bazı çalışmalar ise azalttığını (Fredriksson ve ark 2002) bildirmektedir. Dişeti oluğu sıvısı IL-1 $\alpha$  düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada ise sigara kullanımının IL-1 $\alpha$  düzeylerini düşürdüğu saptanmıştır (Petrooulos ve ark 2004). Sigara kullanımının DOS IL-1 $\beta$  düzeyi üzerine baskılayıcı etkisini bildiren (Rawlinson ve ark 2003, Ataoğlu ve ark 2002) çalışmalar olduğu gibi sigaranın DOS IL-1 $\beta$  düzeyini etkilemediğini bildiren (Giannopoulou ve ark 2003) çalışmalar da bulunmaktadır. Sigara kullanımı ve DOS IL-4 düzeyleri araştırıldığında sigaranın DOS IL-4 düzeylerini yükselttiği bulunmuştur (Giannopoulou ve ark 2003, Kamma ve ark 2004). Dişeti oluğu sıvısı IL-6 seviyelerinin sigara içenlerde arttığını saptayan araştırmalar oluğu gibi (Giannopoulou ve ark 2003, Kamma ve ark 2004) değermediğini bildiren araştırmalar da vardır (Erdemir ve ark 2004). İnterlökin-8 düzeylerinin sigara kullananlarda daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Giannopoulou ve ark 2003, Kamma ve ark 2004).

Bireylerin hastalıklara karşı yatkınlıklarının farklı olması ve aynı tedaviye farklı cevaplar vermeleri farklı genetik yapılar da olmalarıyla açıklanmaktadır. Bunu dikkate alan araştırmacılar periodontal hastalığın genetik polimorfizmlerle olan ilişkilerini ve sigara

kullanımının etkilerini incelemiştir. Bu amaçla IL-1, N-asetil transferaz, TGF- $\beta$ , MMP-1 polimorfizmleri araştırılmıştır (Schenkein, 2002).

### **2.5.1. Genetik Terminoloji**

Genetik analizlerde sıkça kullanılan bazı terimlerin anlaşılması genetik konuların tartışılmasında önemlidir. Kalıtımın temel elemanı olan genler ebeveynlerin çocuklarına kalıtlarını aktarmalarını sağlayan ögelerdir. Kimyasal olarak genler DNA molekülü boyunca dizilen nükleotid dizileridir. Bir toplumda bulunan canlılar genlerinde aynı nükleotid dizilerini içermeyebilirler. Örneğin bir gen bir kodonda “alanin” peptidini kodlayan GCA nükleotidlerini içerirken başka bir bireye ait genin aynı bölgesi gene “alanin”i kodlayan GCC nükleotid dizisini içerebilir. Bu durumda genler farklı nükleotid dizilerine sahip olmalarına karşın aynı proteini üretebilir. Bir genin alternatif formlarına bu genin “allel”leri denmektedir. Değişik “allel”ler bazen ciddi sonuçlar ortaya çıkarabilen değişik aminoasit sekansları kodluyor olabilirler. Örneğin fenilalenin hidroksilaz genindeki 408. kodonda sitozinin timine dönmesi sonucu aminoasit yapısında “argigin” yerine “triptofan” geçmekte sonuçta fenilketonuri hastalığına yol açan inaktif bir enzimin oluşmasına yol açmaktadır. Genler hücrelerde sarmal bir yapı olan kromozomlar içinde bulunurlar. İnsanlarda 23 çift kromozom bulunmaktadır ve her bir insan hücresi  $3 \times 10^9$  baz çifti içerir. Tüm kromozomlarımızda yaklaşık olarak 40.000 civarında gen bulunmaktadır. Her bir kromozom uzunluğu boyunca sarmal bir hale gelmiş çift sarmallı bir DNA içermektedir. Bir kromozomdaki DNA uzatılacak olursa 25 millik bir uzunluğa sahip olduğu görülecektir. Bir genin kromozom üzerindeki yeri o genin “lokus”u olarak adlandırılmaktadır. Yüksek canlıların çoğunda sperm ve yumurta hücreleri haricindeki hücrelerde her kromozomdan biri anneden birisi de babadan gelmek üzere bir çift bulunmaktadır. Bu kromozomlara “homolog kromozom”lar ismi verilmektedir. Bundan dolayı bireyler her “lokus”ta biri anneden birisi de babadan gelen iki “allel” taşımaktadır. Genotip bir bireyin sahip olduğu genetik yapıyı ifade etmektedir. Herhangi bir

“lokus”taki genler birbiriyle tamamen aynı ise bu allel için bireyin “homozigot” olduğu söylenebilir. Eğer “lokus”taki “allel”ler farklı ise bu bireyin o gen için genotipinin “heterozigot” olduğu söylenebilir. Bir bireyin “allel”leri onun genotipini belirlerken genotipin fiziksel veya biyokimyasal ekspresyonu onun “fenotip”ini belirlemektedir. Buna göre genotip allellerin içinde ne olduğunu fenotip ise dışarıdan gözlenenin ne olduğunu tanımlar. Genotip ve fenotipin anlaşılması hayati bir öneme sahiptir. Çünkü belli genler ile bu genlerle ilgili bazı özellikler her zaman birebir uyumlayabilir. Saç rengi, ten rengi, boy, ağırlık gibi pek çok özellik birden fazla gen tarafından belirlenmektedir ve çevresel faktörler fenotipe etki etmektedir. Bu aynı genotipin farklı çevresel koşullara bağlı olarak farklı fenotipler oluşturabileceğini göstermektedir. Örneğin, bunu akciğer kanserine yakalanma riskine sahip genotipteki iki bireyden sigara içenin hastalığı geliştirme riskinin daha fazla olmasıyla açıklayabiliriz. Çevresel etki aynı zamanda bir fenotipin arkasında farklı genotiplerin yatabileceğini göstermektedir yani akciğer kanserine yakalanma riski genetik olarak zayıf olan birisi sigara kullanımına bağlı olarak akciğer kanseri geliştirebilir. Çeşitli alleller şeklindeki genetik varyasyonlara her türden canlıda rastlanır. Bu tür genetik farklılıklar çeşitli DNA markörleri ile izlenebilmektedir. Bu polimorfizmlerin belirlenmesinde pek çok yöntem kullanılmaktadır ve pek çok yeni yöntemde geliştirilmektedir. Kullanılan her yöntemin avantajları olduğu gibi dezavantajları da vardır. Bu metodların başlıcaları şunlardır (Lewin, 2000).

### **Tek Nükleotid Polimorfizmleri “Single Nucleotide Polymorphisms” (SNP)**

Tek nükleotid polimorfizmleri toplumda DNA zincirinin belli bir bölgesindeki nükleotid çiftinin sıklıkla değiştiği bölgeler olarak tanımlanabilir. Örneğin DNA üzerinde belirli bir noktada bulunan T-A baz çifti popülasyondaki diğer bazı bireylerde G-C baz çifti olarak bulunuyorsa bu bölgede bir SNP vardır diyebiliriz. SNP farklı iki allelin bulunduğunu buna bağlı olarak da üç farklı genotip oluşacağını göstermektedir. Bunlar homolog

kromozomların her ikisinde de T-A baz çiftinin bulunduğu homozigot T-A genotipi, homolog kromozomların birisinde T-A diğesinde G-C olan heterozigot genotip ve homolog kromozomların her ikisinde de G-C nükleotidleri bulunan homozigot G-C genotipidir. SNP'ler bir genin kodlanmayan bölgesinde de bulunabilir. Rasgele seçilen iki insanın DNA'sı protein kodlayan kısımda 1000-3000 bp civarında bir farklılık gösterirken kodlanmayan bölgelerde yaklaşık olarak 500-1000 bp da bir farklılık göstermektedir. DNA dizisindeki bir farklılığın SNP olarak kabul edilebilmesi için popülasyonda %1 den daha sık görülüyor olması gerekmektedir. Daha nadir olarak görülen değişiklikler mutasyon olarak kabul edilmektedir. SNP'ler insanlar arasındaki genetik farklılıkların en genel türleridir ve hem insanlar hemde kromozomlar arasında eşit dağılımlar göstermektedirler. İnsanlarda 2001 yılına kadar 300000 SNP tanımlanmıştır (Lewin, 2000).

### **Kesim Parça Uzunluğu Polimorfizmleri “Restriction Fragment Length Polymorphisms” (RFLP)**

Pek çok SNP nin tespiti DNA dizi analizi gerektirirken bir enzimin kesme bölgesine rastlayan polimorfizmler “Southern Blot” yöntemi kullanılarak incelenebilir. Bu yöntemde enzimin tanıma bölgesine uyan allel enzim tarafından parçalanmakta diğere allel ise bütün olarak kalmaktadır. Kesilme işlemi tamamlandıktan sonra örnekler jel elektroforezi ile yürütülmekte ve oluşan görüntüler incelenerek genotipler belirlenmektedir (Hartl ve Jones 2000).

#### **2.5.2. Hastalıkların Genetik Temelleri**

Genetik varyans ve çevresel faktörler bireyler arasındaki fenotipik farklılıkların temel sebepleridir. Nadiren çevresel faktörler veya genetik faktörler kendi başlarına patolojiye sebep olabilirler. Çevresel olarak yüksek dozda radyasyona maruz kalmak genetik yapıdan bağımsız olarak patolojiye sebep olduğu gibi trizomi 21'de de çevresel faktörlerden bağımsız olarak

genetik bozukluk patolojiye sebep olmaktadır. Fakat toplumdaki pek çok hastalıkta çevresel ve genetik faktörlerin belli oranlardaki etkileri patolojiye sebep olmaktadır.

İnsanlarda görülen pek çok hastalığın etiolojisinde genetik faktörlerin bir katkısı olmaktadır. Bu katkı değişik hastalık türleri için değişik oranlarda olmaktadır. Genetik bilimi uzmanları genetik hastalıkları “temel Mendel hastalıkları” ve “kompleks genetik hastalıklar” olarak ikiye ayırmaktadırlar. Bu gruplar arasındaki temel farklılık hastalıkların kalıtımı ile ilgilidir (Kornman ve Newman, 2000).

### **2.5.3. Temel Mendel Hastalıkları**

Tahmin edilebilir kalıtım gösteren hastalıklara Mendel hastalıkları denmektedir. Klinik hastalık fenotipinin oluşmasında genellikle tek bir gen lokusunun etkili olduğu aile içinde geçişi takip edilebilen hastalıklardır. Bu hastalıklar otozomal dominant, otozomal resesif veya X kromozomuna bağlı kalıtım göstermektedirler. Bu hastalıklar genellikle nadir görülen hastalıklardır izole bir takım popülasyonlar haricinde görülme sıklıkları %0.1 den daha azdır. Bir Mendel hastalığının sebebi aydınlatıldığında muhtemelen bir gen lokusundaki mutasyondan kaynaklandığı görülecektir. Hastalık fenotipi geniş bir çevresel ortamda ortaya çıkabilmekte, diğer genler ve çevresel faktörlerde etkili olabilmesine karşın birbirine çok benzer fenotip oluşmaktadır. “Amelogenesis imperfekta”, “Crouson sendromu”, “Cleidocranial dysplasia” bu grubun içinde bulunan hastalıklardan bazılarıdır. Hastalığa sebep olan gen belirlendikten sonra bu geni taşıyan kişilerin tespiti için testler üretilebilmekte, bu testler yardımıyla hastalığın doğacak bir çocukta görülme riski bile önceden tayin edilebilmektedir (Kinane ve Hart, 2003).

### **2.5.4. Kompleks Genetik Hastalıklar**

Kompleks genetik hastalıklar bazı önemli noktalarda Mendel hastalıklarından ayrılmaktadır. Genetik olarak kompleks hastalıklar Mendel hastalıklarına göre daha sıktır, toplumda %1’den daha sık gözlenmektedir ve klasik bir ailesel geçiş göstermezler. Tek bir

genin sebep olduğu basit geçiş gösteren hastalıkların aksine pek çok genin olaya katıldığı karmaşık bir kalıtım söz konusudur. Ayrıca, çevresel faktörler fenotip üzerinde etkili olmaktadır. Mendel hastalıklarındaki nadir mutasyonların aksine kompleks genetik hastalıklarda görülen genetik farklılıklar toplumda sık olarak görülmekte ve hastalıklı bireyler kadar hasta olmayan bireylerde de bulunabilmektedir. Mendel hastalıklarında meydana gelen genetik mutasyonlar ilgili genin ürettiği proteinin fonksiyonunu ciddi şekilde etkilemekte hatta iş göremez duruma getirmektedir ancak kompleks genetik hastalıklarda meydana gelen mutasyonların sonuçları bu kadar ciddi olmamakta genellikle normal fonksiyonlar devam edebilmektedir.

Bir hastalık ile ilgili olduğu bilinen genetik polimorfizm kendi başına hastalığı oluşturabilecek yeterlilikte değildir. Bununla beraber hastalıkla ilişkili bir allelin tespiti kompleks genetik hastalıklarda hastalığın teşhisini sağlamaz. Toplumda hastalıkla ilişkisi bilinen bir allel hastalığı göstermeyen pek çok kişide de bulunabilir. Bu alleler risk belirtmesine karşın belirleyici olarak kullanılamazlar. Mendel hastalıklarında hastalıkla ilişkili olduğu bilinen allelin tespiti hastalığın teşhisi için yeterli olmasına karşın kompleks genetik hastalıklarda hastalıkla ilişkili olduğu bilinen bir allelin tespiti sonrası bunun yorumlanması güçtür ve hastalıkla ilgili diğer faktörlerinde bilinmesi gerekir (Kinane ve Hart, 2003).

### **2.5.5. Polimorfizm ve Mutasyon**

Temel Mendel hastalıkları ile kompleks genetik hastalıklar arasındaki farklardan birisi de hastalığı meydana getirmek için gereken gen sayısının yanında ilgili genlerin hastalıklı fenotipin ortaya çıkmasında ne kadar etkili olduklarıdır. Mendel hastalıklarında bir gen lokusunda meydana gelen “mutasyon” ciddi fizyolojik sorunlara yol açabilmekte ve hastalık için belirleyici olarak kabul edilmektedir. Genetik olarak tespit edilen durumun fenotipte ortaya çıkacağına bilinmesi biyolojik sistemin temelinde bulunan genetik problemi dengeleyemediğini göstermektedir. Genetik uzmanları bu durumları “mutasyon” olarak

isimlendirmektedirler. Çevresel faktörler de genetik faktörler kadar bazı hastalıkların ortaya çıkmasında etkili olmaktadır. Kompleks hastalıklarda ise hastalığın görülmesinde bir genin etkisi oldukça azdır. Bu tür genetik varyasyonlar ise “genetik polimorfizmler” olarak adlandırılmaktadırlar. Mutasyonlardan farklı olarak polimorfizmlerin varlığında hastalık ortaya çıkmaz, ancak hastalıkla ilişkili allelerin hastalarda sağlıklı bireylere nazaran daha sık görüldüğü bilinmektedir. Polimorfizmlerin anlaşılmasında hastalıkla ilişkili olduğu bildirilen “allel”lerin sağlıklı kimselerde de bulunabildiği ve hastalıklı bazı bireylerde ise bu “allel”lerin bulunmadığının bilinmesi önemlidir. Etiyolojide çevresel faktörlerin de kritik bir önemi vardır. Etiyolojilerinin karmaşık olması birçok etkenin görev aldığı hastalıklarda özel bir etkenin hastalığı ne kadar etkilediğini belirlemeyi güçleştirmektedir. Kronik hastalıklar ilerleyen yaşlarda başlamakta ve gelişmeleri yıllar almaktadır. İmmün cevabı ve enflamasyonu etkileyen genetik faktörler de olaya katılmaktadır. Bu fizyolojik ve biyolojik yolların pek çok dengeleyici mekanizmaları bulunmaktadır ve buna bağlı olarak tek bir genetik varyasyonun hastalık üzerinde ne derece etkili olduğunu saptamak çok güçtür. Eğer bir bireyde bir hastalıkla ilişkili polimorfizm gözleniyorsa bunun klinik sonuçlarını sadece polimorfizme bakarak tahmin etmek mümkün değildir (Kornman ve Newman, 2000).

### **2.6.1. Genetik Analiz Metodları**

Klinik ve bilimsel veriler sendromlara bağlı olan ve olmayan periodontal hastalıkların etiyojisinde genetik faktörlerin en önemli belirleyiciler arasında bulunduğunu göstermektedir. Bu verilerin güvenilirliklerinin değerlendirilmesi için genetik analiz yöntemlerinin bilinmesi gerekmektedir. Genetikçiler bir hastalığın genetik temellerini tespit etmek için pek çok teknik kullanılmaktadırlar. Bu metodlardan bazıları genel metodlar olmalarına karşın, bazıları da hastalığa etki eden unsurları çok hassas bir şekilde saptayabilmektedir. Bu metodlardan belli başlıları aşağıda anlatılmaktadır (Kinane ve Hart, 2003).

### **2.6.2. Ailesel Agregasyon**

Bir hastalığın ailesel geçiş göstermesi bu hastalığın genetik bir etiyojisi olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte aileler ortak bir çevresel ortamı paylaştıkları için beslenme, sigara kullanımı, kirlilik gibi bir çok ortak çevresel faktör taşımaktadırlar. Bundan dolayı “ailesel agregasyon”lar ortak genetik, çevresel ve sosyo-ekonomik faktörlerin bir birleşimi olabilir. “Ailesel agregasyon”larda genetik faktörlerin incelenmesinde çok dikkatli olunmalıdır. Prepubertal periodontitisin sık olarak görüldüğü doğu Avrupa kökenli bir Yahudi ailenin 20 bireyi üzerinde yapılan bir çalışmada hastalığın otozomal dominant karakterine benzer tarzda kalıtım gösterdiği tespit edilmiştir (Shapiro ve ark, 1997).

### **2.6.3. İkiz Çalışmaları**

Tek yumurta ikizleri birbirleriyle aynı genetik yapıyı taşımaktadırlar. Bu nedenle ikizler bir genetik hastalığın çevresel faktörlerden ne kadar etkilendiğini araştırmak için mükemmel bir olanak sunmaktadırlar. Çift yumurta ikizleri ise birbirlerine ancak kardeşler kadar benzemektedirler ve genetik olarak birbirlerine yaklaşık %50 benzerlik göstermektedirler. Tek yumurta ikizlerinde görülen hastalıklardaki farklılıklar tamamen çevresel faktörlerden kaynaklanırken çift yumurta ikizleri arasındaki hastalık farklılıkları çevresel ve genetik farklılıkların bir bileşiminden kaynaklanmaktadır. İkiz çalışmalarından elde edilen sonuçlar bir fenotipe genotipin ne oranda etki ettiğini hesaplamakta kullanılabilir. “Konkordans oranları”nın tespiti ikiz çalışmalarının temel ögesidir. Eğer ikizlerin ikisi de hastalıktan aynı şekilde etkilenmişse konkordans %100 dür (Kornman ve Newman, 2001). İkizler üzerinde yapılan bir araştırmada 117 erişkin ikiz cep derinliği, ataşman kaybı, plak ve gingival indeksleri kullanılarak değerlendirilmiş, periodontal sağlık yönünden tek yumurta ikizlerinin çift yumurta ikizlerine göre daha fazla benzerlik gösterdikleri görülmüştür. Genetik ve çevresel faktörler değerlendirildiğinde erişkin periodontitisin %50 oranında genetik faktörlerin etkisi altında olduğu tahmin edilmiştir

(Michalowics ve ark, 2000). Michalowics ve ark. (1999) toplam 169 ikiz çiftinin dahil edildiği klinik ve mikrobiyolojik parametrelerin değerlendirildiği bir çalışmada ise mikrobiyal flora üzerinde konağın genetik yapısının çok etkili görünmediği bildirmişlerdir.

#### **2.6.4. Segregasyon Analizleri**

Genler ebeveynlerden çocuklarına tahmin edilebilir bir şekilde geçmekte ve aile içinde de Mendel kanunlarına göre tahmin edilebilen şekilde dağılmaktadır. Genetikçiler genetik özelliklerin aileler içindeki geçişlerini segregasyon analizi ismi verilen bir yöntem ile tespit etmektedirler. Segregasyon analizi ile genlerin aile içindeki farklı geçiş türleri değerlendirilebilmektedir ve geçişin Mendel kurallarına göre mi yoksa farklı bir tarzda mı gerçekleştiği tespit edilmektedir. Genler otozomal, X'e bağlı, "çekinik", "baskın", "karmaşık", "multi-lokus" veya "rastgele" çevresel bir modele göre geçiş gösterebilir. Genin "penetransı", "fenotip oranı", hastalığın sıklığı, hastalık oluşturmayan "allel"ler bu modelde incelenebilmektedir. Segregasyon analizlerinin her zaman gerçek modeli yansıtamayacağı bilinmelidir. Bunlar iki modelin karşılaştırılması türünde oldukları için test edilen modele benzerliği ölçüsünde başarılı sayılacaklardır. Eğer değerlendirilen modele göre önemli farklılıklar içeriyorsa sonuçlar şüphe ile değerlendirilmelidir. Segregasyon analizlerinde amaç bir hastalıktan sorumlu olan geni bulmak değildir. Avustralya'da yaşayan ve amelogenesis imperfekta ve taurodontizmin birlikte görüldüğü bir ailenin beş kuşaktan toplam yetmiş bireyinin incelendiği bir çalışmada hastalığın otozomal dominant bir kalıtım gösterdiği bildirilmiştir (Aldred ve ark, 2002).

#### **2.6.5. Bağlantı Analizleri**

Bağlantı analizlerinin amacı bir hastalıktan sorumlu olduğu bilinen bir genin kromozom üzerindeki yerini tespit etmektir. Genetik bağlantı analizlerinde birbirlerine yakın olan gen lokuslarının birlikte geçmesi prensibi dikkate alınır. Bu tür kromozom üzerinde birbirine yakın olan genler genellikle beraber geçiş gösterir ve Mendel'in geçiş kurallarını

ihlal ederler. Bu tür genlere birbirine bağılı genler denir. Genetikçiler birbiriyle birlikte geçiş gösteren genleri nicel “kantitatif” yöntemlerle tespit edip bunların kromozomlar üzerinde hangi bölgede bulduklarını tespit edebilmektedirler. Son yirmi yıl içinde insan genomunda milyonlarca genetik polimorfizmin kromozomlar üzerindeki haritası çıkarılmıştır (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/human/>). Bilim adamları ilgilendikleri bir ailede genetik özelliğın aile içinde nasıl geçiş gösterdiğini segregasyon analizi ile inceleyebilmekte, eğer bu özellik bilinen bir polimorfizmle birlikte geçiş gösteriyorsa bunun kromozom haritasındaki yerini tespit edebilmektedirler. Böylece belirli bir genetik özelliğın bilinen bir belirteç “marker” ile birlikte geçiş gösterip göstermediğini tespit edilebilir. Eğer özellik belirteç ile birlikte geçiş gösteriyorsa belirtecin kromozomdaki yerinin yakınlarında ilgili özelliğın geni araştırılır. Eğer bir bağlantı tespit edilebilmişse bu hastalığın genetik kökenlerinin olduğunu gösterir ve daha sonra yapılacak olan ayrıntılı çalışmalarla ilgili gendeki farklılıklar tespit edilebilir. Bağlantı çalışmaları genellikle Mendel hastalıklarının tespitinde faydalı olmaktadır. Ancak kompleks hastalıklar pek çok genin küçük katkılarıyla oluştukları için bağlantı analizleriyle bir sonuç alınması zordur. Buna karşın kompleks hastalıklar için yeni analiz yöntemleri geliştirilmektedir. Guetemala’da periodontal tedavi görmeyen 113 kardeş üzerinde bir çalışma yapılmış ve periodontitisin aile içinde kalıtımla ne kadar geçtiğini araştırılmaya çalışılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde sadece ortalama plak ve dişeti çekilmesinde ilişki bulunmuş, diğere parametrelerde önemli bir ilişki saptanamamıştır. Araştırmacılar periodontitisin kalıtımının klasik yollarla tespit edilemediğini veya genetik komponentin etkisinin zayıf olabileceğini sonucuna ulaşmışlardır (Dowsett ve ark, 2002).

#### **2.6.6. İlişki Çalışmaları**

Periodontitis gibi etiyojisinde birçok etkenin görev aldığı hastalıklara katkıda bulunan genlerin tespiti zordur. Spesifik bir genetik modele uymayan hastalıkların etiyojileri “multifaktöriyel” olarak tanımlanmaktadır. Bu tanım genetik yapıda çeşitli

farklılıkların birlikte etki ettiği ve çeşitli çevresel faktörlerin katkısıyla hastalığın meydana geldiği durumları tanımlamaktadır. “Obezite”, “dudak damak yarıkları” gibi kompleks genetik hastalıklarda bağlantı çalışmaları ya negatif cevaplar vermekte veya tekrarlanamayan zayıf pozitif bulgular elde edilmektedir. Bunun birinci sebebi eğer bir gen hastalığa direkt olarak yol açmıyor veya bulunması hastalık için gerekli ve yeterli değilse “modifiye edici gen” olarak tanımlanan başlangıçta da sıfır olmayan hastalık riskini bulunması durumunda artırıyorsa bunun klasik parametrik bağlantı analizleri ile tespiti mümkün değildir. İkinci olarak eğer bir genin hastalığa katkısı çok büyük değilse örneğin hastalık riskini iki katdan daha az artırıyorsa bağlantı analiz yöntemi bu geni tespit etmek için yeterince güçlü değildir. Bunlardan dolayı periodontitis gibi tek bir genin katkısının zayıf olduğu etiyolojisinde birçok etkenin yer aldığı “multi-faktöriyel” hastalıkların değerlendirilmesinde zayıf ilişkileri de tespit edebildiği için ilişki araştırmaları daha faydalıdır. Genetik araştırmalarda toplumsal veya aile tabanlı çalışmalar olmak üzere iki tür ilişki araştırması yapılabilmektedir. Toplumsal çalışmalarda klasik olarak olgu-kontrol tarzı kullanılmakta ve belirteç “allel” görülme sıklıkları olgular ve kontroller arasında karşılaştırılmaktadır. Doğrusal ilişki bulunduğu takdirde aşağıdaki yorumları yapmak mümkündür, 1) Bu “allel” kendi başına hastalık için “predispozan” bir “allel”dir. 2) Bu allel hastalıkla gerçekten ilişkili olan başka bir genle yakın bir lokusta bulunmaktadır. 3) Bu ilişki toplumsal bir sınıflanmadan kaynaklanmaktadır. 4) Bu ilişki bir örnekleme veya istatistik hatasıdır. İlk iki yorum gen haritası yöntemine bir alternatif sunmaktadır. İlk durumda belirtecin kendisi hastalık için etkili bir lokustur ve birincil önemdedir. Bu aşamadan sonra bu varyasyonun yol açtığı fonksiyonel rolün aydınlatılması için çalışmalar yapılabilir. İkinci durumda ise belirtecin kendisi hastalık ile ilişkili olmasa bile fiziksel olarak hastalık ile ilişkili gene yakın bir bölgede bulunmaktadır. Bu bilgiler kullanılarak ilgili gene ulaşılmaya çalışılmaktadır (Kornman ve Newman, 2000).

### **2.7.1. Periodontal Hastalıklarda Genetiğin Rolü**

Genetik faktörlerin periodontitisin ilerlemesinde etkili olduğuna dair bir çok bilimsel kanıt mevcuttur. İnsan ve hayvanlar üzerinde yürütülen çalışmalardan elde edilen sonuçlar, genetik faktörlerin enflamatuvar ve immün fonksiyonlar üzerine olan etkilerini göstermiştir. Ancak, bireyler benzer çevresel etkiler karşısında farklı tepkiler oluşturabilir. Bu tepkilerin oluşmasında bireyin genetik özellikleri önemli rol oynar. Değişik formlardaki genler (“allelık değişimler”) doku yapısında, antikor cevaplarında ve enflamatuvar mediyatörlerin çalışmalarında önemli farklılıklar oluşturabilmektedir. Pek çok gen lokusundaki bir çok farklılıklar periodontal hastalıklara olan duyarlılığı muhtemelen etkilemektedir. Bu genetik farklılıkların bir kısmının önemli etkileri olurken bir kısmının ise klinik olarak önemsiz etkileri olmaktadır. Genetiğin periodontal hastalıklar üzerine nasıl bir etkisinin olabileceğini daha iyi anlayabilmek için değişik genetik olguların hastalıklara nasıl etki ettiklerinin bilinmesi gerekir (Kinane ve Hart, 2003).

### **2.7.2. Periodontal Hastalıklarda Gen Polimorfizmleri**

Periodontitis genetik ve çevresel faktörler tarafından oluşturulan etiyolojisinde birçok etkenin yer aldığı bir hastalıktır. Genetik özelliklerden hangisinin etkili olabileceğini saptamak için çeşitli çalışmalar yapılmış ve periodontitiste rolü olduğu düşünülen bazı aday genler tespit edilmiştir. Bu genler orijinlerine göre sitokinler, HLA, “immuno reseptör”ler, proteazlar yapısal moleküller, ve diğerleri olmak üzere altı gruba ayrılabilir. Aşağıdaki tabloda 2006 yılında yayınlanan ve bu tarihe kadar literatürde yayınlanan periodontal hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülen genlerin araştırıldığı makaleleri kapsayan bir literatür taramasında 140 adet makaleden elde edilen sonuçlar verilmiştir (Takashiba ve Naruishi, 2006).

Tablo 1.2. Genetik polimorfizmlerin periodontal hastalık ile ilişkisi

Kategori (n)	Gen (n)	İlişki Var	İlişki Yok
<b>Sitokin ve Reseptörü (66)</b>	IL-1 (36)	22	13
	TNF (14)	6	4
<b>HLA Alleli (20)</b>		15	2
<b>İmmünö-Reseptör (21)</b>	FcR (14)	13	2
<b>Proteaze (6)</b>	MMP	3	4
<b>Yapısal Molekül (12)</b>	Cathepsin C (6)	4	1
	Vitamin D R (6)	5	1
<b>Diğerleri (15)</b>		9	7
<b>Toplam (140)</b>	76	29	35

### 2.7.3. Matriks Metalloproteinaz Polimorfizmleri

Matriks metalloproteinazların periodontal hastalıklarda DOS'ta ve dokularda daha yüksek miktarda bulunduğu ve hastalığın patogenezinde rol oynadığı pek çok klinik ve laboratuvar çalışmasıyla belgelenmiştir. Bu etkinin genetik kökenlerini aydınlatmaya yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Matriks metalloproteinaz-1 geninin promotor bölgesinde tanımlanan bir ins-del polimorfizminin -1607 bölgesindeki 2G allelinin 1G allele göre fibroblastlarda ve melanoma hücrelerinde daha fazla MMP-1 sentezlenmesine yol açtığı bulunmuştur (Rutter ve ark, 1998). Brezilya toplumunda 87 hasta üzerinde yapılan bir araştırmada 2G allelinin sağlıklı bireylerde görülme frekansının %48.7, orta şiddette periodontitiste %52.1 ve şiddetli periodontitiste %69.2 olduğu görülmüştür. Ayrıca 2G/2G genotipinin şiddetli periodontitiste %46.15, orta şiddetteki periodontitiste %25 ve sağlıklı bireylerde ise %24.3 oranında gözlemlendiği bildirilmiştir. Araştırmacılar 2G alleli taşıyan bireylerin taşımayanlara göre iki kat daha fazla periodontitis geliştirme riskine sahip olduklarını bildirmişlerdir ( De Souza ve ark, 2003a). Çek Cumhuriyetinde 329 hasta üzerinde yapılan bir başka çalışmada hastalar periodontitisli ve sağlıklı olmak üzere iki gruba ayrılmış,

daha sonra sigara kullanma veya kullanmamalarına göre gruplar içinde tekrar alt gruplara ayrılmışlardır. Araştırmacılar MMP-1 -1607, -519 ve -422 bölgelerindeki polimorfizmleri değerlendirmişler ve sigara içmeyen sağlıklı bireylerde 1G/1G genotipinin %29.8, 1G/2G genotipinin %46.1 ve 2G/2G genotipinin ise %24.1 oranında görüldüğünü sigara içmeyen periodontitisli bireylerde 1G/1G genotipinin %41.4, 1G/2G genotipinin %41.4 ve 2G/2G genotipinin ise %17.2 oranında görüldüğünü bildirmişlerdir. Sigara kullananlarda ise sağlıklı bireylerde 1G/1G genotipinin %30.9, 1G/2G genotipinin %50.9 ve 2G/2G genotipinin ise %18.2 oranında görüldüğünü periodontitiste ise 1G/1G genotipinin %30.4, 1G/2G genotipinin %56.5 ve 2G/2G genotipinin ise %13.1 oranında görüldüğünü bildirmişlerdir. Diğer polimorfizmleri de hesaba katınca periodontitisli hastalarda -1607 1G/2G, -519 AA ve -422 AT genotipinin daha sık görüldüğü, kontrol grubunda ise -1607 1G/2G, -519 AA ve -422 TT genotipinin öne çıktığını, incelenen tüm polimorfizmler dikkate alındığında bu polimorfizmlerin periodontal hastalığın gelişimine ancak küçük bir katkıda bulunabileceğini ve bu katkının De Souza ve ark'nın (2003b) araştırmasının aksine 1G alleliyle ilişkili görüldüğünü, bu farklılığın örnek seçimi, toplumsal genetik farklılıklar ve çevresel faktörlerden kaynaklanabileceğini söylemişlerdir (Holla ve ark 2004). Japonya'da 37 AgP, 205 KP ve 142 sağlıklı hasta üzerinde yürütülen bir çalışmada MMP-1 -1607 ve MMP-3 -1171 polimorfizmlerinin periodontal hastalıklar ile ilişkisi araştırılmış, MMP-1 polimorfizmi değerlendirildiğinde AgP teşhisi konulmuş hastalarda 1G/1G genotipinin %18.9, 1G/2G genotipinin %46, 2G/2G genotipinin ise %35.1 oranında gözleendiğini, KP teşhisi konulmuş bireylerde 1G/1G genotipinin %12.7, 1G/2G genotipinin %40, 2G/2G genotipinin ise %47.3 oranında gözleendiğini, sağlıklı bireylerde ise 1G/1G genotipinin %14.8, 1G/2G genotipinin %43.7, 2G/2G genotipinin ise %41.5 oranında gözleendiğini bildirmişlerdir. Araştırılan polimorfizmler ile periodontitis arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Genotiplerin dağılımının ise Kafkas orijinli ve Japon bireyler arasında yaklaşık olarak iki kat

farklılık gösterdiği görülmüştür (Itagaki ve ark, 2004). Brezilya kökenli sigara kullanmayan 114 periodontitisli ve 109 sağlıklı birey üzerinde yapılan bir çalışmada ise MMP-1 -1607, -519 ve MMP-3 -1612 polimorfizmleri araştırılmış sağlıklı bireylerde 1G/1G genotipinin %22, 1G/2G genotipinin %47.7, 2G/2G genotipinin ise %30.3 oranında gözleendiği periodontitisli bireylerde 1G/1G genotipinin %19.3, 1G/2G genotipinin %43.9, 2G/2G genotipinin ise %36.8 oranında gözleendiğini bildirmişlerdir. MMP-3 polimorfizminin ise 5A allelinin periodontitisli hastalarda daha sık görüldüğü bildirilmiş ve MMP-1 polimorfizmleri periodontal hastalık ile ilişkilendirilemezken MMP-3 polimorfizminde 5A allelinin hastalığın patogenezinine bir katkı yapabileceği rapor edilmiştir. Bu sonuç aynı ekibin daha önce yaptığı çalışmanın sonucu ile uyumlu değildir. Araştırmacılar bu farklılığın örnek sayısından veya periodontitis hastalarının alt gruplara ayrılmamasından kaynaklanabileceğini düşünmektedirler (Astolfi ve ark, 2006).

### **3.MATERYAL ve METOD**

#### **3.1.Çalışma Grubu**

Araştırma grubuna, Nisan 2005 tarihi ile Temmuz 2006 tarihi arasında Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji kliniğine başvuran, kardiyovasküler rahatsızlığı, kronik böbrek hastalığı, diyabeti, metabolik hastalığı olmayan, ortodontik tedavi görmemiş olan ve insan immun yetmezlik virüsü “Human immunodeficiency virus” (HIV), Hepatit A, B veya C virusleri taşımayan toplam 180 hasta dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalara araştırmanın amacı ve içeriği anlatıldı ve gönüllü olarak çalışmaya katıldıklarına dair bilgilendirilmiş onay formu imzalatıldı. Araştırma için Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Etik Kurulu’ndan onay alındı. (Toplantı tarihi 21/01/2004, Toplantı sayısı 04/02)

#### **3.2. Periodontal Değerlendirme**

Klinik olarak Silness-Löe Plak indeksi (Pİ) (Silness ve Löe 1964), gingival indeks (Gİ) (Löe ve Silness, 1963), SCD ve KAK ölçümleri yapıldı.

*a) Plak İndeksi:* Tüm dişlerin fasial, lingual, mezial ve distal dört yüzeyine sond kullanılarak bakılır. Diş yüzeyindeki plak miktarını belirlemek üzere kullanılan bu indeks;

0: Diş yüzeyinde dişeti bölgesinde hiç bakteri plağı yok.

1: Yüzeyinde bakteri plağı gözle görünmemekte, ancak sond ucu dişeti sulkusunda gezdirildiğinde bakteri plağı izlenmektedir.

2: Dişeti bölgesi inceden orta kalınlığa kadar plakla kaplıdır ve bu birikinti gözle seçilebilmektedir.

3: Yumuşak eklenti miktarı fazladır, kalınlığı dişeti sulkusunu doldurur.

*b) Gingival İndeks:* Bu indeks sondlamadan sonra dişler arasındaki papilin kanamasını, ve enflamasyonun şiddetini esas alır. Derecelendirmesi şöyledir;

0 : Sondlamada kanama yok, enflamasyon belirtisi yok.

1: Sondlamada kanama yok, hafif renk değişimi ve hafif ödem var.

2: Sondlamada kanama var, kırmızılık ve ödem var, dişeti matlığını kaybetmiş.

3: Şiddetli enflamasyon, ülserasyonlar ve spontan kanamalar var.

c) *Sondlama cep derinliği*: Tüm dişlerde Williams periodontal sond\* ile dişeti kenarı ile sondlanabilir cep tabanı arasındaki mesafe milimetrik olarak ölçüldü. Tüm dişlerin meziobukkal, bukkal, distobukkal, distolingual (veya distopalatinal), lingual (veya palatinal), meziolingual (veya meziopalatinal) olmak üzere toplam altı noktasından alınan sondlama değerleri kaydedildi. Ayrıca, “0-3 mm”, “4-5 mm” ve “6 mm” veya daha fazla SCD olan alanların yüzde dağılımı hesaplandı.

d) *Klinik Ataşman Kaybı*: Tüm dişlerin mine-sement sınırı ile sondlanabilir cep tabanı arasındaki mesafe Williams periodontal sond kullanılarak milimetrik olarak ölçüldü. Tüm dişlerin meziobukkal, bukkal, distobukkal, distolingual (veya distopalatinal), lingual (veya palatinal), meziolingual (veya meziopalatinal) olmak üzere toplam altı bölgesinden ölçüm yapıldı. Klinik ataşman kaybına göre alanların yüzde dağılımı, “0-2 mm”, “3-5 mm”, ve “≥6 mm” olarak hesaplandı.

e) *Alveoler Kemik Kaybı*: Panoramik röntgenlerde Schei cetveli kullanılarak alveoler kemik kaybı (AKK) yüzdesi belirlendi. Periodontal olarak sağlıklı bir ağızda alveoler kemik kreti yaklaşık olarak mine senent sınırınının 1.5-2 mm apikalindedir. Bu nedenle panoramik radyograflarda alveoler kretin bulunması gereken mesafe 2 mm olarak belirlendi. Hastaların panoramik radyografları üzerinde her dişin mezial ve distalinde mine-sement sınırınının 2 mm apikali sabit kalemle işaretlendi ve bu noktalar esas alınarak AKK yüzdesi hesaplandı.

---

\* Hu Friedy, Chicago, Illinois, USA

Dişlerin mezial ve distallerindeki kemik kayıplarının ortalaması o dişe ait AKK yüzdesi olarak belirlendi.

f) *Mobilite*: Mobilite değerlendirmesinde metal iki aletin sapları arasına alınan diş tüm yönlerde hareket ettirilmeye çalışıldı. Sınıf I 1mm hareketlilik, sınıf II 1-2 mm hareketlilik, sınıf III 2 mm'yi geçen ve/veya dikey yönde hareketlilik olarak değerlendirildi.

g) *Periodontal teşhis*: Hastaların klinik muayenesinde ve periodontal doku sağlığının teşhisinde üçüncü molarlar hariç tüm dişler değerlendirildi ve üç gruba ayrıldı (Offenbacher ve ark 2001).

1) *Sağlıklı*: Ağız içinde hiçbir dişinde  $\geq 3$  mm SCD ve  $>2$  mm KAK olmayan bireyler.

2) *Orta Şiddette Periodontitis*: Ağız içinde  $\geq 3$  mm SCD ve  $>2$  mm KAK olan dişler bulunan fakat dört veya daha fazla dişte  $\geq 5$  mm SCD, ve  $\geq 2$  mm KAK olmayan hastalar.

3) *Şiddetli Periodontitis*: Dört veya daha fazla dişte  $\geq 5$  mm SCD olan ve  $\geq 2$  mm KAK olan hastalar.

### **3.3. Sigara Tüketiminin Değerlendirilmesi**

Sigara kullanan bireylerdeki sigara tüketimi paket/yıl olarak aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (Bernaards ve ark, 2001).

$[(\text{Günde kullanılan sigara adedi}/20) \times \text{yıl olarak sigara tüketim süresi}] = \text{paket/yıl}$

#### **3.4.1. Örnek Alınacak Dişleri Tespiti**

Her bir bireyde alt çenede iki ve üst çenede iki dişten olmak üzere toplam dört dişten örnek alındı. Periodontitisli hastalarda örnek alınan dişler sağ çenede ve sol çenede birer adet olmak üzere arktaki cep derinliği en fazla olan dişlerdi. Ancak, SCD eşit olduğu durumlarda 16, 21, 36, 41 numaralı oral hijyen indeks dişlerinden, bunların eksik olduğu durumda ise

eksik olan diş en yakın olan diştten DOS örneği alındı. Alınan örnekler analiz yapıncaya kadar -20°C de saklandı.

### **3.4.2 Dişeti Oluğu Sıvısı Örneğlerinin Değerlendirmesi**

Dişeti oluğu sıvısı örneğleri aşığıdaki protokole göre alındı.

- 1) Supragingival plak diş etine değmeden bir küret yardımı ile uzaklaştırdı.
- 2) Örnek alınacak bölge pamuk rulo tamponlarla izole edildi ve hava spreyi ile kurutuldu.
- 3) Kağıt şerit<sup>Ω</sup> sulkusta hafif direnç hissedilinceye kadar ilerletildi ve 30 saniye kağıt şeridin DOS'u toplaması beklendi. Kan ve salya bulaşan kağıt şeritler çalışmaya dahil edilmedi.
- 4) Kağıt şeritteki sıvı miktarı Periotron 8000\* cihazı ile ölçüldü.
- 5) Bir hastadan alınan toplam dört kağıt şerit 500 µl taşıyıcı solüsyon (%0.05 sığır serum albumini içeren ve pH 7.4 olan) içeren Eppendorf tüpe koyuldu ve analiz edileceği güne kadar -20 °C' de saklandı.

### **3.5. Dişeti Oluğu Sıvısı MMP-1 ve TIMP-1 Düzeylerinin Belirlenmesi**

Dişeti oluğu sıvısı örneğlerinin MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mehmet Serpek Laboratuvar'ında enzim bağlı immün absorban yöntem "Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay" (ELISA) ile gerçekleştirildi. (Calbiochem MMP-1 elisa kit QIA55, TIMP-1 elisa kit QIA54, Darmstadt, Almanya)

#### *Yöntemin Prensihi*

ELISA tekniğine göre geliştirilen yöntemde ELISA plaklarının yuvaları MMP-1 ve TIMP-1'e özğü monoklonal antikorla kaplanmıştır. Yuvalarda bulunan bu antikor standart ve örneğlerle verilen MMP-1 ve TIMP-1 moleküllerini bağlarlar. Daha sonra "horseradish peroxidase (HRP) conjugate" bağlı anti-MMP-1 ve TIMP-1 yuvaya ilave edilir. İnkubasyon

---

<sup>Ω</sup> Pro Flow Inc, New York, USA

\* Oraflow Inc, Plainview, New York, USA

işleminde sonra kromojenik tetra-methylbenzidine (TMB) ilavesi ile renk saydam renkten maviye döner. 2.5 N sülfirik asit rengi sarıya çevrilir ve kolorimetrik değerlendirmeye geçilir.

### *Biyokimyasal Değerlendirme*

Analizde kullanılan çözeltiler kitte bildirilen yöntemeye uygun olarak hazırlandı.

Standartların hazırlanması amacıyla kit içerisindeki stok standart MMP-1 için (3.6 ng/ml) kullanıldı ve 0.11 ng/ml ile 3.6 ng/ml arasında ½'lik seri sulandırmalar yapıldı. Plak üzerindeki uygun yuvalara 100 µl standart ve 100 µl örnek ilave edildi. TIMP-1 için (1.6 ng/ml) kullanıldı ve 0.05 ng/ml ile 1.6 ng/ml arasında ½'lik seri sulandırmalar yapıldı. Plak üzerindeki uygun yuvalara 100 µl standart ve 100 µl örnek ilave edildi. Örnek ve standart inkübasyonunun ardından 100 µl “HRP konjugatı” plak yuvalarına eklendi ve plastik film ile örtülerek +4°C’de MMP-1 için iki saat TIMP-1 için bir saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre içerisinde konjugatın örnekteki MMP-1 ve TIMP-1 ile birlikte monoklonal antikora bağlanması sağlandı. Bekleme süresinin sonunda plakların içeriği döküldü ve dört veya beş kez yıkama tamponu ile yıkanarak nonspesifik bağlanmalar uzaklaştırıldı. Daha sonra 100µl kromojenik TMB ajanı eklendi ve 30 dakika beklendi sürenin sonunda 100µl 2.5N sülfirik asit stop solüsyonu olarak eklendi ve “450 nm”de okumalar yapılarak enzim düzeyleri belirlendi. Okunan DOS MMP-1 ve TIMP-1 değerleri (pg/ml) sulandırma miktarı (0.5 ml) ile çarpıldı ve dörde bölünerek 30 saniyede toplanan MMP-1 ve TIMP-1<sup>dos</sup> total miktarı (pg/30s) belirlendi. Birim hacimdeki MMP-1 ve TIMP-1 (pg/µl) konsantrasyonları hesaplanırken okunan MMP-1 ve TIMP-1 değerleri (pg/ml) 0.5 ml sulandırma miktarı ile çarpıldı ve DOS (µl) hacmine bölündü.

### **3.6. DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonu işlemi Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarında yapıldı.

DNA izolasyonu aşağıdaki protokole göre yapıldı.

- 1) 10 ml soğuk distile su üzerine 1ml kan pipetaj ile hemoliz olacak şekilde eklendi.
- 2) Karışım 4500 rpm'de üç dakika santrifüj edildi.
- 3) Süpernatant döküldü ve deney tüpü ters çevrilerek kuruması beklendi.
- 4) 850 µl çekirdek parçalama tamponu eklendi ve vortekslendi.
- 5) 16 saat 37°C de bektetildi.
- 6) 850 µl kloroform eklendi ve vortekslendi. Karışım 1.5 ml'lik tüpe aktarıldı.
- 7) 13000 rpm de üç dakika santrifüj edildi.
- 8) stte kalan şeffaf kısım alındı ve bir ml soğuk saf etanole koyuldu.
- 9) 13000 rpm de üç dakika santrifüj yapıldı ve süpernatant döküldü.
- 10) zerine bir ml %70'lik etanol eklendi ve 13000 rpm de üç dakika santrifüj edildi.
- 11) Alkol uğuruldu ve üzerine 200 µl distile-deiyonize su eklendi.

Elde edilen DNA'lar analiz aşamasına kadar -20 °C de saklandı.

### **3.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu**

Bir DNA molekülünün sekansının bir bölümü biliniyorsa bu bölüm bir deney tüpünde çoğaltılabilir. Bu çoğaltma işlemi Polimeraz zincir reaksiyonu "Polimerase chain reaction" (PCR) ismi verilen işlemlerle geręekleřtirilir. PCR işlemi aşağıdaki basamaklardan oluşur.

- 1) Çift sarmallı DNA yapısı ısı ile denatüre edilerek tek sarmallı DNA oluşturulur.
- 2) Soğuyan ortamda primerler tek sarmallı DNA'ların uygun bölgelerine bağlanırlar. Bu olaya annealing denir.
- 3) Taq DNA polimeraz enzimi primerlerin bağlandığı yerlerden başlayarak DNA'nın kalan kısmını sentezlemesi işlemine zincir uzaması "replikasyon" denir.

Bu basamaklar her tekrarlandığında deney tüpündeki kalıp DNA miktarı hedeflenen DNA bölgesinde  $2^n$  miktarınca artar. Örneğin PCR işlemi 35 kez tekrar edildiğinde deney tüpündeki bir adet kalıp DNA işlem sonunda  $2^{35}$  adet olacaktır (Griffiths ve ark 2002).

### 3.7.1 Matriks Metalloproteinaz-1 -1607 Polimorfizminin Araştırılması

Matriks Metalloproteinaz-1 geninin promotor bölgesi aşağıda belirtilen primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltıldı.

Araştırma Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji Laboratuvarında yapıldı.

Kullanılan primer dizileri:

F 5' TCGTGAGAATGTCTTCCCATT 3'

R 5' TCTTGGATTGATTTGAGATAAGTGAAATC 3'

PCR işlemi 50µl hacimde aşağıdaki maddeler kullanılarak gerçekleştirildi.

- 1- 1 µl DNA (50ng/µl)
- 2- 37.1 µl PCR suyu
- 3- 5 µl 10X PCR tampon çözeltisi (Bioron)
- 4- 5 µl MgCl<sub>2</sub> 25mM (Bioron)
- 5- 0.5 µl dNTP (her biri 25mM) (Larova)
- 6- 0.5 µl forward primer (50 pmol/ µl) (MWG)
- 7- 0.5 µl reverse primer (50 pmol/ µl) (MWG)
- 8- 0.4 µl Taq polimeraz (5 ünite/µl) (Bioron)

### 3.7.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşulları

PCR işlemi bir "Termal siklus" cihazı (Eppendorf mastercycler, gradient model, Almanya) ile yapıldı. PCR Amplifikasyon koşulları:

95°C'de 5 dakika ilk denaturasyon

95 °C'de 30 saniye denaturasyon

55 °C'de 30 saniye primer bağlanması

72°C'de 30 saniye uzama reaksiyonu

72 °C 7 dakika son sentez

36 Döngü

### 3.7.3 Restriksiyon Endonükleaz Analizi

Elde edilen PCR ürünlerinde MMP-1 geni -1607 bölgesi için 1G allellerinde *XmnI* restriksiyon enzimi için bir tanıma bölgesi oluşmaktadır.

*XmnI* enzimi küt kesen bir enzimdir.

5' GAANN↓NNTTC 3'  
3' CTTNN↑NNAAG 5'

Tanımlı bölgede restriksiyon işlemi gerçekleştirilmektedir. 1G allelinde enzim için bir tanıma bölgesi oluşmakta ve 118 bp'lik DNA parçası 29bp ve 89 bp olmak üzere iki parçaya ayrılmaktadır. Diğer taraftan 2G allelinde ise bir tanıma bölgesi oluşmadığı için 118 bp'lik DNA tek parça halinde kalmaktadır.

Restriksiyon işlemi aşağıdaki protokole göre 30 µl lik hacimde gerçekleştirilmiştir.

1-20 µl PCR ürünü

2-3 µl Tango Buffer 10X MBI, Fermentas

3-1 µl *XmnI* MBI, Fermentas

4-6 µl ddH<sub>2</sub>O

Enzim kesim reaksiyonu PCR ürünü 37°C'de 16 saat inkübe edilerek gerçekleştirilmiş ve enzim kesim sonuçları %3'lük microphore agaroz jelde 80V gerilimde 45 dakika yürütülerek analiz edilmiştir.

### 3.8 Verilerin İstatistiksel Analizi

Sağlıklı, orta şiddette ve şiddetli periodontitis teşhisi konulmuş bireyler arasındaki farklılığın değerlendirilmesinde non parametrik bir test olan Kruskal Wallis testi kullanıldı. Gruplar arası anlamlı farklılığın olduğu parametreler Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

MMP-1 polimorfizminde “1G/1G, 1G/2G, 2G/2G” genotiplerinin ve 2G taşıyıcılığının sağlıklı, orta ve şiddetli periodontitisi olan bireyler arasındaki dağılımı ki-kare testi ile değerlendirildi. Sigara içen ve içmeyen bireyler arasındaki klinik periodontal parametreler ve DOS MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki fark verilerin dağılımı nedeniyle bağımsız t testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Dişeti oluğu sıvısı MMP-1 ve TIMP-1 konsantrasyonları (pg/μl), total miktar (pg/30 sn) ve MMP-1/TIMP-1 oranının klinik periodontal parametrelerle ilişkisi Pearson korelasyon analizi ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel farklılıklar %95 güven aralığına göre değerlendirildi. (p<0.05)

## 4. BULGULAR

### 4.1. Klinik Bulgular

Bu araştırma toplam 180 birey üzerinde tamamlanmıştır. Araştırmaya katılan ve sağlıklı grubu oluşturan 54 bireyden 19'u kadın 35'i erkek, orta şiddette periodontitis grubunu oluşturan 42 hastadan 8'i kadın 34'ü erkek ve şiddetli periodontitis grubunu oluşturan 84 hastadan 23'ü kadın 61'i erkekti. Hasta gruplarına ait yaş, ağızda bulunan diş sayısı ve sigara kullanım bilgileri Tablo 4.1 de verilmiştir.

Tablo 4.1:Sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi konulmuş bireylerin yaş, diş sayısı ve sigara kullanım düzeyleri

	Sağlıklı (n=54)	Orta Şiddette Periodontitis (n=42)	Şiddetli Periodontitis (n=84)	Toplam (n=180)	Kruskal Wallis testi	p
<b>Yaş</b>						
Ort±Ss	40.3±5.5	45.3±8.2 <sup>a</sup>	44.9±7.5 <sup>a</sup>	43.6±7.4	16.828	<b>0.000</b>
Min-Maks	35-56	30-68	29-64	29-68		
<b>Diş Sayısı</b>						
Ort±Ss	26.19±1.8	25.19±2.3	23.9±2.6 <sup>a</sup>	24.8±2.5	26.855	<b>0.000</b>
Min-Maks	21-28	20-28	20-28	20-28		
<b>Sigara</b>						
(+/-)	(19/35)	(18/24)	(45/39)	(82/98)	5.782	0.056
Paket/yıl	5.13±9.5	6.5±10.4	9.9±13.7	7.7±12		
Min-Maks	0-40	0-45	0-58	0-58		

<sup>a</sup> Mann Whitney U testine göre farklı gruplar p<0.05

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir.

Sağlıklı grupta yaş ortalaması orta şiddetli periodontitisten ve şiddetli periodontitisten daha düşüktü (p<0.05). Ayrıca, sağlıklı, orta şiddette periodontitiste ve şiddetli periodontitiste ağızdaki diş sayısı birbirinden farklı bulundu (p<0.05).

Hasta gruplarına ait klinik parametreler Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Klinik periodontal parametrelerin hepsinde grupların istatistiksel olarak birbirinden farklı oldukları saptanmıştır (p<0.05). Tablo 4.3'de sigara kullanan ve kullanmayan grupların klinik periodontal parametre değerleri gösterilmiştir. Sadece GI (p>0.05) dışındaki tüm klinik periodontal parametreler gruplar arasında farklı (p<0.05) bulunmuştur.

Tablo 4.2:Sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde klinik periodontal parametre değerleri

	Sağlıklı (n=54)	Orta Şiddette Periodontitis (n=42)	Şiddetli Periodontitis (n=84)	Toplam (n=180)	Kruskal Wallis testi	p
<b>Pi</b>						
Ort±Ss	1.43±0.62	1.77±0.61	2.25±0.63	1.89±0.71	46.630	<b>0.000</b>
Min-Maks	1.00-3.00	1.00-3.00	1.00-3.00	1.00-3.00		
<b>Gi</b>						
Ort±Ss	1.26±0.42	1.64±0.51	2.10±0.58	1.74±0.63	63.107	<b>0.000</b>
Min-Maks	1.00-3.00	1.00-3.00	1.00-3.00	1.00-3.00		
<b>SCD (mm)</b>						
Ort±Ss	2.44±0.28	2.9±0.33	3.82±0.87	3.19±0.88	115.755	<b>0.000</b>
Min-Maks	1.70-2.85	1.75-3.60	1.86-5.90	1.70-5.90		
<b>KAK(mm)</b>						
Ort±Ss	2.31±0.37	2.98±0.44	4.24±0.96	3.3±01.11	138.89	<b>0.000</b>
Min-Maks	1.15-2.85	1.25-3.80	2.92-6.95	1.15-6.95		
<b>Mobilite</b>						
Ort±Ss	-	0.06±0.09	0.36±0.44	0.18±0.35	64.664	<b>0.000</b>
Min-Maks	-	0-0	0.18-2.00	0.00-2.00		
<b>AKK (%)</b>						
Ort±Ss	0.00±0.00	4.29±3.45	19.98±12.19	10.32±12.49	148.774	<b>0.000</b>
Min-Maks	0.00-0.00	0.00-14.00	3.00-55.00	0.00-55.00		
<b>SCD (%)</b>						
<b>1-3mm</b>						
Ort±Ss	100±0.0	86.3±9.40	47.7±24.3	72.4±29.2	150.275	<b>0.000</b>
Min-Maks	100-100	55.1-98.5	0.00-87.8	0.0-100.0		
<b>4-5mm</b>						
Ort±Ss	0.00±0.00	12.0±7.9	41.9±17.9	22.3±22.8	149.505	<b>0.000</b>
Min-Maks	0.00-0.00	1.50-30.7	8.30-86.6	0.00-86.6		
<b>≥6mm</b>						
Ort±Ss	0.00±0.00	0.73±1.20	10.4±12.9	5.0±10.2	104.464	<b>0.000</b>
Min-Maks	0.00-0.00	0.00-4.30	0.00-65.8	0.00-65.8		
<b>KAK (%)</b>						
<b>0-2 mm</b>						
Ort±Ss	100±0	80.7±10.1	38.8±23.2	66.9±31.9	152.022	<b>0.000</b>
Min-Maks	100-100	57.50-97.0	0.00-82.1	0.00-100		
<b>3-5 mm</b>						
Ort±Ss	0.00±0.00	18.0±9.4	49.2±17.6	27.2±25.2	149.482	<b>0.000</b>
Min-Maks	0.00-0.00	1.00-41.0	11.9-86.6	0.00-86.6		
<b>≥6mm</b>						
Ort±Ss	0.00±0.00	1.20±2.40	12.1±14.5	5.9±11.5	103.962	<b>0.000</b>
Min-Maks	0.00-0.00	0.00-13.9	0.00-74.2	0.00-74.2		

Test edilen tüm gruplar ve parametreler Mann Whitney U testine göre de farklıdır p<0.05

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir.

Tablo 4.3: Sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan bireylerde klinik periodontal parametre değerleri

	<b>Sigara içme alışkanlığı (-)</b>	<b>Sigara içme alışkanlığı (+)</b>	<b>Toplam</b>	<b>T testi</b>	<b>p</b>
<b>Pi</b>				3.48	<b>0.001</b>
n	98	82	180		
Ort±Ss	1.73±0.67	2.09±0.71	1.89±0.71		
Min-Maks	1.0-3.0	1.0-3.0	1.0-3.0		
<b>Gi</b>				1.88	0.061
n	98	82	180		
Ort±Ss	1.66±0.75	1.84±0.67	1.74±0.64		
Min-Maks	1-3	1-3	1-3		
<b>SCD (mm)</b>				3.18	<b>0.002</b>
n	98	82	180		
Ort±Ss	3.01±0.75	3.42±0.97	3.19±0.88		
Min-Maks	1.75-5.88	1.70-5.90	1.70-5.90		
<b>KAK(mm)</b>				3.38	<b>0.001</b>
n	98	82	180		
Ort±Ss	3.12±0.96	3.67±1.21	3.37±1.11		
Min-Maks	1.15-6.95	1.24-6.50	1.15-6.95		
<b>Mobilite</b>				2.00	<b>0.047</b>
n	98	82	180		
Ort±Ss	0.13±0.29	0.24±0.41	0.18±0.35		
Min-Maks	0-2	0-2	0-2		
<b>AKK (%)</b>				3.24	<b>0.001</b>
n	98	82	180		
Ort±Ss	7.63±10.30	13.54±14.10	10.32±12.49		
Min-Maks	0-53	0-55	0-55		
<b>SCD (%)</b>					
<b>1-3mm</b>				4.0	<b>0.000</b>
Ort±Ss	80.2±23.3	63.0±32.7	72.4±29.2		
Min-Maks	6.8-100.0	0.0-100.0			
<b>4-5mm</b>				4.2	<b>0.000</b>
Ort±Ss	16.0±17.4	29.9±26.1	22.3±22.8		
Min-Maks	0.0-63.1	0.0-86.6	0.0-86.6		
<b>≥6mm</b>				1.9	<b>0.053</b>
Ort±Ss	3.6±7.6	6.6±12.4	5.0±10.2		
Min-Maks	0.0-39.2	0.0-65.8	0.0-65.8		
<b>KAK (%)</b>					
<b>0-2 mm</b>				4.2	<b>0.000</b>
Ort±Ss	74.8±26.7	57.5±35.0	66.9±31.9		
Min-Maks	1.1-100.0	0.0-100	0.0-100.0		
<b>3-5 mm</b>				3.7	<b>0.000</b>
Ort±Ss	20.1±19.7	35.5±24.8	27.2±25.2		
Min-Maks	0.0-63.0	0.0-86.6	0.0-86.6		
<b>≥6mm</b>				1.1	0.245
Ort±Ss	5.0±9.5	7.0±13.4	5.9±11.5		
Min-Maks	0.0-44.6	0.0-74.2	0.0-74.2		

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

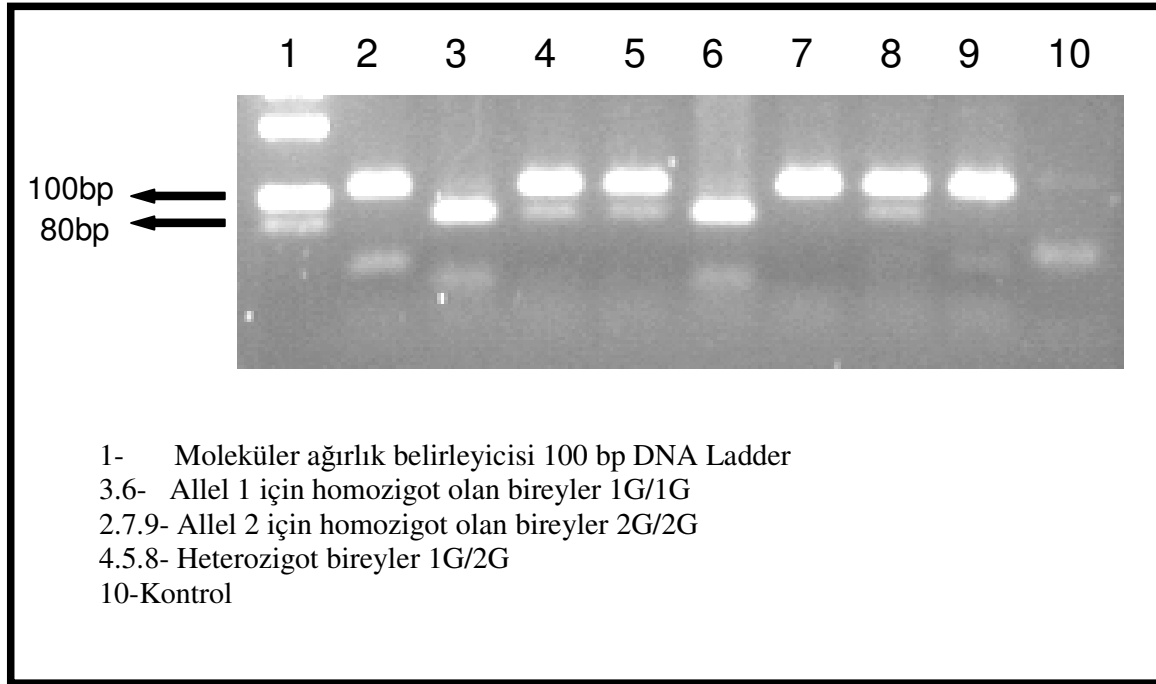
Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir.

## 4.2. Genetik Bulgular

MMP-1 geni promotor bölgesi -1607 kısında bulunan 1G/2G polimorfizmi “reverse primer”de iki adet nükleotid değiştirme işlemi gerçekleştirildikten sonra XmnI restriksiyon enzimi kullanılarak değerlendirilmiştir. Enzim tanımlama bölgesinde kesim yaptığında 1G/1G genotipinde olan bireylerde 89 ve 29 bp’lik iki parça oluşmaktadır. 1G/2G genotipinde ise 118 bp lik kesilmemiş bir parça 89 ve 29 bp’lik iki parça daha olmak üzere toplam üç parça oluşmaktadır. 2G/2G genotipinde ise 118bp’lik tek bir parça oluşmaktadır. Polimorfizmler jel elektroforezi sonucu elde edilen görüntüde parçaların görüntüleri değerlendirilerek belirlenmiştir. Polimorfizmin tespitinde kullanılan görüntülerin bir örneği Şekil 4-1’de görölmektedir.

Şekil 4-1 MMP-1 -1607 polimorfizmine ait jel elektroforez görüntüleri



Polimorfizmin periodontal doku sağlığına göre dağılımları Tablo 4.4’de gösterilmiştir. Sonuçlar Hardy-Weinberg prensibine uygun olarak dağılmaktadır. Sağlıklı, orta ve şiddetli periodontitis teşhisi konulan bireyler arasında polimorfizm açısından fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Tablo 4.4:MMP-1 geni -1607 bölgesindeki polimorfizmin periodontal doku sağlığına göre dağılımları

	Sağlıklı (n=54)	Orta şiddette Periodontitis (n=42)	şiddetli Periodontitis (n=84)	Toplam (n=180)	p
<b>Genotip</b>					
1G/1G	11 (%20.4)	9 (%21.4)	15 (%17.9)	35 (%19.4)	0.961
1G/2G	28 (%51.9)	23 (%54.8)	44 (%52.4)	95 (%52.8)	
2G/2G	15 (%27.8)	10 (%23.8)	25 (%29.8)	50 (%27.8)	
<b>Alleller</b>					
1G	50 (%46.2)	41 (%48.8)	74 (%43)	165 (%45.8)	0.769
2G	58 (%53.8)	43 (%51.2)	94 (%57)	195 (%54.2)	
<b>Taşıyıcılık</b>					
2G+	11 (%20.3)	9 (%21.4)	15 (%17.8)	35 (%19.4)	0.874
2G-	43 (%79.7)	33 (%78.6)	69 (%82.2)	145 (%80.6)	

*P değerleri ki kare testine göre verilmiştir*

Sigaranın periodontal hastalık için önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (Rivera-Hidalgo, 2003). Sigaranın periodontal hastalık üzerindeki olası etkilerinin daha iyi incelenebilmesi için sigara içen ve içmeyen bireyler ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Sigara içmeyen bireylere ait bulgular Tablo 4.5’de. sigara içen bireylere ait bulgular ise tablo 4.6’da gösterilmiştir ( $p>0.05$ ).

Tablo 4.5: Sigara içme alışkanlığı olmayan bireylerde MMP-1 geni -1607 bölgesindeki polimorfizmin periodontal doku sağlığına göre dağılımları

	Sağlıklı (n=35)	Orta şiddette Periodontitis (n=24)	şiddetli Periodontitis (n=39)	Toplam (n=98)	p
<b>Genotip</b>					
1G/1G	7 (%20)	6 (%25)	8 (%20.5)	21 (%21.4)	0.442
1G/2G	16 (%45.7)	15 (%62.5)	19 (%48.7)	50 (%51)	
2G/2G	12 (%34.3)	3 (%12.5)	12 (%30.8)	27 (%27.6)	
<b>Alleller</b>					
1G	30 (%42.8)	27 (%56.25)	35 (%44.8)	92 (%46.9)	0.321
2G	40 (%57.2)	21 (%43.75)	43 (%55.2)	104(%53.1)	
<b>Taşıyıcılık</b>					
2G+	7 (%20)	6 (%25)	8 (%20.5)	21 (%21.4)	0.885
2G-	28 (%80)	18 (%75)	31 (%79.5)	77 (%78.6)	

*P değerleri ki kare testine göre verilmiştir*

Tablo 4.6: Sigara içme alışkanlığı olan bireylerde MMP-1 geni -1607 bölgesindeki polimorfizmin periodontal doku sağlığına göre dağılımı

	Sağlıklı (n=19)	Orta Şiddette Periodontitis (n=18)	Şiddetli Periodontitis (n=45)	Toplam (n=82)	p
<b>Genotip</b>					
1G/1G	4 (%21)	3 (%16.6)	7 (%15.5)	14 (%17)	0.623
1G/2G	12 (%63.1)	8 (%44.4)	25 (%55.5)	45 (%54.8)	
2G/2G	3 (%15.9)	7 (%39)	13 (%33)	23 (%28.2)	
<b>Alleller</b>					
1G	20 (%52.6)	14 (%38.8)	39 (%43.3)	73 (%44.5)	0.446
2G	18 (%47.4)	22 (%61.2)	51 (%56.7)	91 (%55.5)	
<b>Taşıyıcılık</b>					
2G+	4 (%21)	3 (%16.6)	7 (%15.5)	14 (%17)	0.886
2G-	15 (%79)	15 (%83.4)	38 (%84.5)	68 (%83)	

*P değerleri ki kare testine göre verilmiştir*

### 4.3. Biyokimyasal Bulgular

Çalışmaya katılan bireylerin DOS MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri ELISA yöntemi ile değerlendirilmiş ve test sonucunda okunamayan 17 değer araştırmaya dahil edilmemiştir.

Tablo 4.7’de MMP-1, TIMP-1 total miktarları (pg/30sn) ve konsantrasyonlarının (pg/μl) gruplara göre dağılımı gösterilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda MMP-1 ve TIMP-1 konsantrasyonlarının hastalığın şiddetinin artması ile birlikte anlamlı bir şekilde ( $p<0.05$ ) azaldığı tespit edildi. MMP-1 ve TIMP-1 total miktarları (pg/30sn) periodontal hastalık şiddetine göre farklı değildi ( $p>0.05$ ). DOS (μl) düzeyi hastalığın şiddetiyle birlikte anlamlı bir şekilde artmaktaydı ( $p<0.05$ ). Sağlıklı, orta şiddette ve şiddetli periodontitis teşhisi konulmuş bireylerde DOS (μl) hacmi, DOS MMP-1 ve TIMP-1 konsantrasyonları (pg/μl) sigara içen hem de içmeyen bireylerde birbirinden farklıydı ( $p>0.05$  Tablo 4.8, Tablo 4.9). Sigara içen ve içmeyen bireyler arasında DOS MMP-1 total miktar ( $p=0.559$ ), TIMP-1 total miktar ( $p=0.186$ ), MMP-1 konsantrasyon ( $p=0.166$ ) ve TIMP-1 konsantrasyon ( $p=0.606$ ) yönünden farklı bulunmadı

Tablo 4.7:Sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde DOS hacmi (µl), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/µl) ve MMP-1/TIMP-1 oranı

	Sağlıklı (n=51)	Orta Şiddette Periodontitis (n=37)	Şiddetli Periodontitis (n=76)	Toplam (n=164)	Kruskal Wallis Testi	p
<b>DOS (µl)</b>						
n	51	37	76	164		
Ort±Ss	0.34±0.25	0.74±0.48 <sup>a</sup>	1.30±0.86 <sup>a,b</sup>	0.88±0.77		
Min-Maks	0.04-1.52	0.14-2.24	0.10-3.79	0.04-3.79	<b>71.171</b>	<b>0.000</b>
<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	41	34	72	147		
Ort±Ss	7.24±2.76	8.33±3.89	9.15±5.59	8.41±4.59	5.312	0.07
Min-Maks	0.94-13.85	2.20-18.36	1.08-43.15	0.94-43.15		
<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	51	37	76	164		
Ort±Ss	36.41±27.94	40.68±27.87	37.40±20.61	37.83±24.6	1.519	0.468
Min-Maks	6.99-141.80	8.99-131.16	10.44-101.49	6.99-141.8		
<b>MMP-1 /TIMP-1</b>						
n	41	34	72	147		
Ort±Ss	0.32±0.25	0.34±0.36	0.32±0.22	0.33±0.27	0.274	0.872
Min-Maks	0-1.0	0-1.9	0-1.1	0-1.9		
<b>MMP-1 (pg/µl)</b>						
n	41	34	72	147		
Ort±Ss	115.8±80.3	65.5±62.2 <sup>a</sup>	35.9±29.6 <sup>a,b</sup>	65.8±65.4	<b>41.58</b>	<b>0.000</b>
Min-Maks	5.6-326	14-299.7	2.1-181.7	2.326		
<b>TIMP-1 (pg/µl)</b>						
n	51	37	76	164		
Ort±Ss	536.4±410.4	342.8±490.7 <sup>a</sup>	176.4±209.9 <sup>a,b</sup>	325.9±386	<b>57.364</b>	<b>0.000</b>
Min-Maks	61-1885.6	34.8-2914.5	27.6-1234.6	27.6-2914		

a=Sağlıklı gruba göre p<0.05; b=orta şiddetliye göre p<0.05 (Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testine göre)

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir.

Tablo 4.8: Sigara içme alışkanlığı olmayan ve sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde DOS hacmi ( $\mu\text{l}$ ), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar ( $\text{pg}/30\text{sn}$ ) ve konsantrasyonları ( $\text{pg}/\mu\text{l}$ ) ve MMP-1/TIMP-1 oranı

	Sağlıklı (n=35)	Orta Şiddette Periodontitis (n=24)	Şiddetli Periodontitis (n=39)	Toplam (n=98)	Kruskal Wallis Testi	p
<b>DOS (<math>\mu\text{l}</math>)</b>						
n	35	24	39	98		
Ort±Ss	0.32±0.26	0.77±0.55 <sup>a</sup>	1.34±0.80 <sup>a,b</sup>	0.84±0.74	<b>47.340</b>	<b>0.000</b>
Min-Maks	0.04-1.52	0.14-2.24	0.40-3.35	0.04-3.35		
<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	30	24	39	93		
Ort±Ss	6.7±2.95	8.58±4.16	10.14±6.95 <sup>a</sup>	8.61±5.39	<b>10.165</b>	<b>0.006</b>
Min-Maks	0.94-13.85	2.20-18.36	1.83-43.15	0.94-43.15		
<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	35	24	39	98		
Ort±Ss	31.98±24.44	42.96±26.17	34.45±15.22	35.46±21.8	5.972	0.052
Min-Maks	7.63-129.85	18.52-131.16	12.52-72.54	7.63-131.1		
<b>MMP-1 /TIMP-1</b>						
n	30	24	39	93		
Ort±Ss	0.33±0.24	0.29±0.26	0.33±0.21	0.32±0.23	1.977	0.372
Min-Maks	0-1.0	0-1.0	0.1-0.9	0-1.0		
<b>MMP-1 (pg/<math>\mu\text{l}</math>)</b>						
n	30	24	39	93		
Ort±Ss	114.8±83.0	68.3±72.6 <sup>a</sup>	41.5±37.7 <sup>a,b</sup>	72.5±71.4	<b>18.458</b>	<b>0.000</b>
Min-Maks	5.6-326.0	14.0-299.7	4.45-181.7	4.45-326.0		
<b>TIMP-1 (pg/<math>\mu\text{l}</math>)</b>						
n	35	24	39	98		
Ort±Ss	529.4±451.0	390.4±616.8 <sup>a</sup>	133.7±99.8 <sup>a,b</sup>	340.4±439	<b>37.965</b>	<b>0.000</b>
Min-Maks	140.1-1885.6	34.8-2914.5	27.6-488.7	27.6-2914		

a=Sağlıklı gruba göre  $p<0.05$ ; b=orta şiddetliye göre  $p<0.05$  (Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testine göre)

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir.

Tablo 4.9: Sigara içme alışkanlığı olan ve sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı

	Sağlıklı (n=19)	Orta Şiddette Periodontitis (n=18)	Şiddetli Periodontitis (n=45)	Toplam (n=82)	Kruskal Wallis Testi	p
<b>DOS (<math>\mu</math>l)</b>						
n	19	18	45	82	<b>23.456</b>	<b>0.000</b>
Ort $\pm$ Ss	0.37 $\pm$ 0.22	0.70 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	1.27 $\pm$ 0.92 <sup>a,b</sup>	0.93 $\pm$ 0.80		
Min-Maks	0.14-0.91	0.14-1.43	0.1-3.79	0.1-3.79		
<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	15	16	41	72	0.251	0.882
Ort $\pm$ Ss	8.19 $\pm$ 2.16	8.01 $\pm$ 3.63 <sup>a</sup>	8.21 $\pm$ 3.76 <sup>a,b</sup>	8.16 $\pm$ 3.39		
Min-Maks	3.71-10.85	2.58-17.30	1.08-21.36	1.08-21.36		
<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	19	18	45	82	0.621	0.733
Ort $\pm$ Ss	44.53 $\pm$ 32.62	38.00 $\pm$ 30.33	39.91 $\pm$ 24.19	40.58 $\pm$ 27.4		
Min-Maks	6.99-141.8	8.99-127.25	10.44-101.49	6.99-141.8		
<b>MMP-1 /TIMP-1</b>						
n	15	16	41	72	0.281	0.869
Ort $\pm$ Ss	0.31 $\pm$ 0.27	0.42 $\pm$ 0.47	0.30 $\pm$ 0.23	0.33 $\pm$ 0.31		
Min-Maks	0-1.0	0-1.9	0-1.1	0-1.9		
<b>MMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>						
n	15	16	41	72	<b>22.334</b>	<b>0.000</b>
Ort $\pm$ Ss	117.6 $\pm$ 77.8	61.8 $\pm$ 47.2 <sup>a</sup>	30.6 $\pm$ 18.3 <sup>a,b</sup>	57.5 $\pm$ 56.6		
Min-Maks	21.49-278.3	16.5-197.7	2.1-92.1	2.1-278.3		
<b>TIMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>						
n	19	18	45	82	<b>18.933</b>	<b>0.000</b>
Ort $\pm$ Ss	549.2 $\pm$ 335.2	286.7 $\pm$ 289.7 <sup>a</sup>	212.9 $\pm$ 266.7 <sup>a,b</sup>	309.1 $\pm$ 316		
Min-Maks	61.0-1213.9	74.7-1011.3	32.6-1234.6	32.6-1234		

a=Sağlıklı gruba göre p<0.05; b=orta şiddetliye göre p<0.05 (Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testine göre)

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir.

Klinik periodontal parametreler ve biyokimyasal değerler arasında pearson korelasyon sonuçları Tablo 4.10'da verilmiştir. Biyokimyasal parametrelerin klinik parametrelerle korelasyonunda tüm hasta grubunda, sigara içen (Tablo 4.11) ve içmeyen (Tablo 4.12) hastalarda ayrı ayrı incelenmiştir.

Tablo 4.10 Klinik periodontal parametreler ile DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı arasındaki Pearson korelasyonu

	<b>DOS</b>	<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>	<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>	<b>MMP-1 /TIMP-1</b>	<b>MMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>	<b>TIMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>
<b>Pi</b>						
Korelasyon	<b>0.409</b>	0.053	0.105	-0.124	<b>-0.377</b>	<b>-0.279</b>
p	<b>0.000</b>	0.527	0.182	0.137	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>Gi</b>						
Korelasyon	<b>0.561</b>	0.148	0.066	-0.40	<b>-0.384</b>	<b>-0.337</b>
p	<b>0.000</b>	0.073	0.400	0.635	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>SCD (mm)</b>						
Korelasyon	<b>0.631</b>	<b>0.163</b>	0.029	-0.023	<b>-0.437</b>	<b>-0.361</b>
p	<b>0.000</b>	<b>0.049</b>	0.716	0.783	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>KAK(mm)</b>						
Korelasyon	<b>0.575</b>	<b>0.192</b>	0.011	0.006	<b>-0.407</b>	<b>-0.353</b>
p	<b>0.000</b>	<b>0.020</b>	0.892	0.947	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>Mobilite</b>						
Korelasyon	<b>0.449</b>	0.073	0.014	-0.017	<b>-0.265</b>	<b>-0.228</b>
p	<b>0.000</b>	0.378	0.861	0.842	<b>0.001</b>	<b>0.003</b>
<b>AKK (%)</b>						
Korelasyon	<b>0.513</b>	0.150	0.022	-0.005	<b>-0.369</b>	<b>-0.269</b>
p	<b>0.000</b>	0.07	0.776	0.953	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>

Tablo 4.11 Sigara içme alışkanlığı olmayan bireylerde klinik periodontal parametreler ile DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı arasındaki Pearson korelasyonu

	<b>DOS</b>	<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>	<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>	<b>MMP-1 /TIMP-1</b>	<b>MMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>	<b>TIMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>
<b>Pi</b>						
Korelasyon	<b>0.426</b>	0.132	-0.041	0.021	<b>-0.290</b>	<b>-0.316</b>
p	<b>0.000</b>	0.241	0.702	0.853	<b>0.009</b>	<b>0.003</b>
<b>Gi</b>						
Korelasyon	<b>0.570</b>	0.115	-0.008	-0.004	<b>-0.337</b>	<b>-0.346</b>
p	<b>0.000</b>	0.307	0.940	0.973	<b>0.002</b>	<b>0.001</b>
<b>SCD (mm)</b>						
Korelasyon	<b>0.645</b>	0.216	-0.002	0.063	<b>-0.390</b>	<b>-0.364</b>
p	<b>0.000</b>	0.052	0.982	0.577	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>KAK(mm)</b>						
Korelasyon	<b>0.578</b>	<b>0.271</b>	-0.017	0.107	<b>-0.341</b>	<b>-0.367</b>
p	<b>0.000</b>	<b>0.014</b>	0.876	0.346	<b>0.002</b>	<b>0.000</b>
<b>Mobilite</b>						
Korelasyon	<b>0.334</b>	0.008	-0.053	0.032	-0.199	-0.166
p	<b>0.001</b>	0.940	0.627	0.780	0.075	0.123
<b>AKK (%)</b>						
Korelasyon	<b>0.517</b>	0.201	0.000	0.049	<b>-0.320</b>	<b>-0.318</b>
p	<b>0.000</b>	0.072	0.999	0.663	<b>0.004</b>	<b>0.003</b>

Tablo 4.12 Sigara içme alışkanlığı olan bireylerde klinik periodontal parametreler ile DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı arasındaki Pearson korelasyonu

	<b>DOS</b>	<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>	<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>	<b>MMP-1 /TIMP-1</b>	<b>MMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>	<b>TIMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>
<b>Pi</b>						
Korelasyon	<b>0.387</b>	-0.042	0.185	<b>-0.271</b>	<b>-0.476</b>	<b>-0.234</b>
p	<b>0.000</b>	0.737	0.110	<b>0.028</b>	<b>0.000</b>	<b>0.042</b>
<b>Gi</b>						
Korelasyon	<b>0.541</b>	0.109	0.085	-0.162	<b>-0.539</b>	<b>-0.428</b>
p	<b>0.000</b>	0.384	0.456	0.193	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>SCD (mm)</b>						
Korelasyon	<b>0.631</b>	0.149	0.006	-0.086	<b>-0.492</b>	<b>-0.397</b>
p	<b>0.000</b>	0.232	0.957	0.490	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>KAK(mm)</b>						
Korelasyon	<b>0.581</b>	0.143	-0.016	-0.69	<b>-0.481</b>	<b>-0.374</b>
p	<b>0.000</b>	0.253	0.892	0.581	<b>0.000</b>	<b>0.001</b>
<b>Mobilite</b>						
Korelasyon	<b>0.419</b>	0.191	0.084	-0.063	<b>-0.234</b>	<b>-0.161</b>
p	<b>0.000</b>	0.124	0.471	0.615	<b>0.058</b>	<b>0.165</b>
<b>AKK (%)</b>						
Korelasyon	<b>0.516</b>	0.147	-0.001	-0.041	<b>-0.422</b>	<b>-0.301</b>
p	<b>0.000</b>	0.238	0.995	0.745	<b>0.000</b>	<b>0.008</b>

Sağlıklı bireylerde MMP-1 -1607 polimorfizminin DOS MMP-1 ve TIMP-1 enzim düzeylerine bir etkisi olup olmadığı değerlendirildi. Matriks metalloproteinaz-1 polimorfizmi “1G/1G”, 1G/2G” ve “2G/2G” genotipi olan bireylerde DOS hacmi, MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı nın farklı olmadığı bulundu ( $p>0.05$ , Tablo 4.13). Sağlıklı, orta ve şiddetli periodontitis teşhisi konulmuş bireylerde periodontal teşhis yönünden ayrı ayrı incelendiğinde de MMP-1 -1607 polimorfizminin DOS MMP-1 ve TIMP-1 enzim düzeyleri yönünden farklı olmadığı bulundu ( $p>0.05$ , Tablo 4.14, Tablo 4.15, Tablo 4.16).

Tablo 4.13:Matriks metalloproteinaz-1 polimorfizmi "1G/1G", 1G/2G" ve "2G/2G" genotipi olan bireylerde DOS hacmi ( $\mu$ l), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/ $\mu$ l) ve MMP-1/TIMP-1 oranı

	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Toplam	Kruskal Wallis testi	p
<b>DOS (<math>\mu</math>l)</b>					0.385	0.825
n	30	87	47	164		
Ort $\pm$ Ss	0.94 $\pm$ 0.79	0.90 $\pm$ 0.80	0.80 $\pm$ 0.70	0.88 $\pm$ 0.77		
Min-Maks	0.14-3.06	0.10-3.66	0.04-3.79	0.04-3.79		
<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>					0.149	0.928
n	29	78	40	147		
Ort $\pm$ Ss	8.1 $\pm$ 2.3	8.2 $\pm$ 3.9	8.9 $\pm$ 6.5	8.4 $\pm$ 4.5		
Min-Maks	4.0-11.9	1.0-23.9	0.9-43.1	0.9-43.1		
<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>					0.677	0.713
n	30	87	47	164		
Ort $\pm$ Ss	33.7 $\pm$ 16.5	40.7 $\pm$ 28.7	35.0 $\pm$ 20.1	37.8 $\pm$ 24.6		
Min-Maks	6.9-89.0	7.6-141.8	8.9-89.1	6.9-141.8		
<b>MMP-1 /TIMP-1</b>					0.782	0.676
n	29	78	40	147		
Ort $\pm$ Ss	0.29 $\pm$ 0.18	0.31 $\pm$ 0.24	0.39 $\pm$ 0.35	0.33 $\pm$ 0.27		
Min-Maks	0.1-1.0	0.0-1.1	0.0-1.9	0.0-1.9		
<b>MMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>					0.919	0.631
n	29	78	40	147		
Ort $\pm$ Ss	54.4 $\pm$ 46.3	67.0 $\pm$ 72.0	71.6 $\pm$ 64.0	65.8 $\pm$ 65.4		
Min-Maks	10.2-173.5	4.4-326.0	2.1-253.2	4.4-326.0		
<b>TIMP-1 (pg/<math>\mu</math>l)</b>					1.908	0.385
n	30	87	47	164		
Ort $\pm$ Ss	218.0 $\pm$ 190.1	357.8 $\pm$ 434.4	335.7 $\pm$ 380.3	325.9 $\pm$ 368.6		
Min-Maks	32.9-891.4	31.5-2914.5	27.7-1723.0	27.7-2914.5		

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir

Tablo 4.14:Periodontal olarak sağlıklı MMP-1 polimorfizmi “1G/1G”, “1G/2G” ve “2G/2G” genotipi olan bireylerde DOS hacmi (µl), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/µl) ve MMP-1/TIMP-1 oranı

	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Toplam	Kruskal Wallis testi	p
<b>DOS (µl)</b>						
n	11	28	15	54		
Ort±Ss	0.31±0.12	0.37±0.32	0.29±0.13	0.34±0.25		
Min-Maks	0.16-0.56	0.10-1.52	0.04-0.54	0.04-1.52	0.203	0.903
<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	7	23	12	42		
Ort±Ss	7.68±1.80	7.09±2.79	7.26±3.31	7.24±2.76		
Min-Maks	5.96-10.85	1.08-12.41	0.94-13.85	0.94-13.85	0.083	0.960
<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	8	28	15	51		
Ort±Ss	24.51±9.68	42.45±34.08	31.48±17.93	36.41±27.94		
Min-Maks	6.99-35.98	7.63-141.80	9.80-68.96	6.99-141.80	1.989	0.371
<b>MMP-1 /TIMP-1</b>						
n	7	23	12	42		
Ort±Ss	0.29±0.09	0.30±0.26	0.38±0.28	0.32±0.25		
Min-Maks	0.20-0.40	0.00-1.00	0.00-1.00	0.00-1.00	1,537	0.464
<b>MMP-1 (pg/µl)</b>						
n	7	23	12	42		
Ort±Ss	112.1±46.1	118.2±95.2	113.4±68.5	115.8±80.3		
Min-Maks	56.0-173.5	5.6-326.0	8.0-253.0	5.60-326.0	0.270	0.874
<b>TIMP-1 (pg/µl)</b>						
n	8	28	15	51		
Ort±Ss	368.7±231.8	567.5±403.7	567.8±491.3	536.4±410.4		
Min-Maks	139.8-891.4	61.0-1885.6	140.1-1723	61-1885.6	1.758	0.415

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir

Tablo 4.15: Orta şiddetli periodontitisli MMP-1 polimorfizmi “1G/1G”, “1G/2G” ve “2G/2G” genotipi olan bireylerde DOS hacmi (µl), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/µl) ve MMP-1/TIMP-1 oranı

	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Toplam	Kruskal Wallis testi	p
<b>DOS (µl)</b>						
n	9	23	10	42		
Ort±Ss	0.79±0.45	0.74±0.54	0.67±0.38	0.74±0.48		
Min-Maks	0.14-1.43	0.14-2.24	0.2-1.37	0.14-2.24	0.184	0.912
<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	8	19	8	35		
Ort±Ss	7.23±2.62	8.38±4.34	9.32±3.99	8.33±3.89		
Min-Maks	4.08-9.86	2.20-18.36	4.08-17.30	2.20-18.36	1.299	0.522
<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	8	20	9	37		
Ort±Ss	45.39±12.21	44.31±34.67	28.43±16.95	40.68±27.87		
Min-Maks	29.55-63.82	18.52-131.16	8.99-59.81	8.99-131.16	4.601	0.1
<b>MMP-1 /TIMP-1</b>						
n	8	19	8	35		
Ort±Ss	0.18±0.09	0.31±0.26	0.58±0.60	0.34±0.36		
Min-Maks	0.10-0.30	0.00-1.00	0.10-1.19	0.00-1.90	3.196	0.202
<b>MMP-1 (pg/µl)</b>						
n	8	19	8	35		
Ort±Ss	41.9±31.4	65±66.6	90.3±71.4	65.5±62.2		
Min-Maks	18.9-114.5	14-299.7	16.5-197.7	14-299.7	2.292	0.318
<b>TIMP-1 (pg/µl)</b>						
n	8	20	9	37		
Ort±Ss	269.8±183.5	439.4±645.2	193±107.7	342.8±490.7		
Min-Maks	108.4-662.4	34.8-2914.5	102.7-430.6	34.8-2914.5	1.365	0.505

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir

Tablo 4.16: Şiddetli periodontitis teşhisi konulmuş MMP-1 polimorfizmi “1G/1G”, “1G/2G” ve “2G/2G” genotipi olan bireylerde DOS hacmi (µl), MMP-1 ve TIMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonları (pg/µl) ve MMP-1/TIMP-1 oranı

	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Toplam	Kruskal Wallis testi	p
<b>DOS (µl)</b>						
n	15	44	25	84		
Ort±Ss	1.49±0.86	1.32±0.89	1.17±0.8	1.3±0.86		
Min-Maks	0.43-3.06	0.1-3.66	0.21-3.79	0.1-3.79	1.182	0.554
<b>MMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	14	36	20	70		
Ort±Ss	8.87±2.40	8.90±4.35	9.78±8.59	9.15±5.59		
Min-Maks	4.46-11.97	1.83-23.99	1.08-43.15	1.08-43.15	0.228	0.892
<b>TIMP-1 (pg/30sn)</b>						
n	14	39	23	76		
Ort±Ss	32.31±18.50	37.55±20.63	39.90±22.08	37.40±20.61		
Min-Maks	10.44-89.07	11.07-101.49	12.07-89.17	10.44-101.49	1.260	0.533
<b>MMP-1 /TIMP-1</b>						
n	14	35	20	69		
Ort±Ss	0.34±0.22	0.31±0.21	0.32±0.25	0.32±0.22		
Min-Maks	0.10-1.00	0.10-1.10	0.00-0.90	0.00-1.10	0.873	0.646
<b>MMP-1 (pg/µl)</b>						
n	14	36	20	70		
Ort±Ss	32.8±26.7	35.4±26	38.9±37.9	35.9±29.6		
Min-Maks	10.2-92.1	4.45-115.9	2.1-181.7	2.1-181.7	0.434	0.805
<b>TIMP-1 (pg/µl)</b>						
n	14	39	23	76		
Ort±Ss	102.2±59.4	165.5±170.3	240.2±300	176.4±209.9		
Min-Maks	32.9-203.5	31.5-873.2	27.7-1234.6	27.6-1234.6	2.528	0.283

Ort: Ortalama

Ss: Standart sapma

Min: Minimum

Maks: Maksimum olarak verilmiştir

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada, MMP-1'in -1607 bölgesindeki polimorfizmi incelendi ve polimorfizmin periodontal hastalık ve DOS MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri ile ilişkili olmadığı saptandı. Literatürde, MMP-1 polimorfizminin farklı toplumlarda değişik sonuçları olabileceği rapor edilmiştir (De Souza ve ark 2003a, Cao ve ark 2005). Bilgilerimiz dahilinde, bu çalışma MMP-1 -1607 polimorfizminin DOS MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri üzerine olabilecek etkisinin Türk toplumunda araştırıldığı ilk çalışmadır.

### 5.1 Yaş Ortalaması, Diş Sayısı ve Sigara İçme Alışkanlığı

Bu araştırmada periodontoloji kliniğine başvuran 180 hasta periodontal doku sağlığına göre sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis (Offenbacher ve ark 2001) olarak üç gruba ayrıldı. Gruplar arasında yaş ortalamaları birbirine yakın olmakla birlikte sağlıklı grubun yaş ortalaması diğer gruplardan daha düşük bulunması periodontal hastalık şiddetinin ilerleyen yaşla ilişkili olabileceği görüşünü (Hasegava ve ark 2004) destekler niteliktedir. Ayrıca, artan periodontal hastalık şiddetinin diş kaybının en önemli nedenlerinden birisi olduğu sonucu (Machtei ve ark 1999) bu araştırmanın bulgularıyla uyumludur.

Bu çalışmada, araştırma grubunu oluşturan bireylerde hastalık şiddeti arttıka sigara kullanım miktarının artış eğiliminde olduğu saptandı. Sigaranın periodontal hastalık için bir risk faktörü olduğu rapor edildiğinden (Hidalgo-Rivera, 2003) bu çalışmada araştırma grupları sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan iki alt grup olarak da incelenmiştir. Literatürde sigaranın periodontal hastalığın patogenezinde rol aldığı düşünülerek sadece sigara kullanmayan bireylerin dahil edildiği genetik çalışmalar olduğu gibi (De Souza ve ark 2003a, Itagaki ve ark 2003, Astolfi ve ark 2006), sigara içen ve içmeyen bireylerin beraber ve ayrı ayrı değerlendirildikleri çalışmalar da (Kornman ve ark 1997, Armitage ve ark 2000, Holla ve ark 2004) mevcuttur.

## 5.2 Klinik Periodontal Parametreler

Bu çalışmada, sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis olarak ayrılan hasta gruplarında dişeti enflamasyonu, plak miktarı, ataşman ve alveoler kemik kaybının periodontal hastalık şiddetine göre artış gösterdiği saptandı. Sondlama cep derinliği “1-3 mm”, “4-5 mm” ve “≥6 mm” olan alanların yüzdesi ve KAK “0-2 mm”, “3-5 mm” ve “≥6 mm” olan alanların yüzdesi gruplar arasında farklıydı. Bu farklılık grupları oluşturma kriterlerinin bir sonucudur. Sigara içme alışkanlığı olan bireylerde tüm klinik periodontal parametreler sigara içme alışkanlığı olmayan bireylerden daha yüksek değerlerdeydi, ancak sadece Gİ önemli oranda farklı bulunmadı. Sigaranın dişeti damarlarında oluşturduğu daralma etkisine bağlı olarak (Morozumi ve ark 2004) mevcut doku yıkımı maskelendiği görüşü desteklenmedi. Ancak, özellikle SCD, KAK, ve AKK'nın sigara içme alışkanlığı olan bireylerde yüksek olması, sigaranın periodontal doku sağlığını olumsuz etkilediğini göstermektedir.

## 5.3 Matriks Metalloproteinaz-1 Polimorfizmi ve Periodontal Hastalık

Genetik polimorfizmleri periodontal hastalıkta bir risk faktörü olarak inceleyen çalışmalarda genotip analizleri, “allel” frekansları ve hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen “allel”e ait taşıyıcılık oranları hesaplanmaktadır. Genetik araştırmalar, ırklar arasında “allel” frekanslarının farklı olabileceğini ve bir ırk üzerinde yapılan genetik araştırmanın sonuçlarının başka bir ırk için benzerlik göstermeyebileceğini ortaya koymuştur (Itagaki ve ark 2003).

Matriks metalloproteinaz-1'in -1607 bölgesindeki polimorfizmi yumurtalık kanseri (Lievre ve ark 2006), akciğer kanseri (Su ve ark 2005) adenomlar (Rutter ve ark 1998) ile ilişkili bulunmuştur. MMP-1 -1607 polimorfizminde 2G “allel”linin kanserli bölgelerde daha fazla hücreler arası doku yıkımına sebep olduğu gösterilmiştir. Ancak, periodontal hastalıklar

üzerindeki etkileri üzerine yapılan araştırmaların sonuçları çelişkilidir. Matriks metalloproteinaz-1 -1607 polimorfizminin periodontal hastalıkla ilişkili olduğunu bulan araştırmalar (De Souza ve ark 2003a, Cao ve ark 2005, Cao ve ark 2006) olduğu gibi, polimorfizmin periodontal problem için belirleyici bir etken olmadığı da rapor edilmiştir. (Astolfi ve ark 2006, Itagaki ve ark 2004, Holla ve ark 2004). De Souza ve ark. (2003a) Güney Amerika kökenli bireyler üzerinde yaptıkları araştırmada, MMP-1 -1607 polimorfizmine ait “allel” frekansları 1G alleli için sağlıklı bireylerde %51.3, orta şiddette periodontitiste %47.9, ve şiddetli periodontitiste %30.8 olarak tespit edilmiştir. 2G alleleine ait frekanslarda sağlıklı bireylerde %48.7, orta şiddette periodontitiste %52.1, ve şiddetli periodontitiste %69.2 olarak tespit edilmiştir. Aynı ırkta olgu-kontrol tarzında yapılan başka bir çalışmada ise sağlıklı bireylerde 1G allelinin %45.9, periodontitiste ise %41.2 oranında görüldüğu, 2G allelinin sağlıklı bireylerde %54.1 periodontitiste ise %58.8 oranında görüldüğu tespit edilmiştir (Astolfi ve ark, 2006). Itagaki ve ark, (2004) sarı ırktan Japon bireylerde 1G allelinin sağlıklı bireylerde %32.7, periodontitiste %36.6, 2G allelinin sağlıklı bireylerde %67.3 periodontitiste ise %63.4 oranında görüldüğünü rapor etmiştir. Cao ve ark. (2005) Çin populasyonunda olgu kontrol tarzında yaptıkları araştırmada 42 GAgP’li hasta ve 50 sağlıklı bireyi incelemişler, 1G allelinin sağlıklı bireylerde %51.0, GAgP’te %31.3, 2G allelinin sağlıklı bireylerde %49.0 GAgP’te ise %69.7 oranında görüldüğu bildirmişlerdir. Cao ve ark. (2006) Çin’li hastalar üzerinde yaptıkları ve hastaları sağlıklı orta şiddette ve şiddetli periodontitis olarak ayırdıkları diğer bir araştırmada 1G allelinin sağlıklı bireylerde %51, orta şiddette periodontitiste %31.6 ve şiddetli periodontitiste %26.6, 2G allelinin sağlıklı bireylerde %49, orta şiddette periodontitiste %68.4 ve şiddetli periodontitiste %73.4 oranında görüldüğu bildirilmişlerdir. Caucasian ırkı olarak bilinen Çek bireyler üzerinde yapılan bir araştırmada 1G “allel”linin sağlıklı bireylerde %53.8, periodontitiste ise %60.9 oranında görüldüğu 2G “allel”linin ise sağlıklı bireylerde %46.2, periodontitiste ise %39.1

oranında görüldüğü bildirilmiştir (Holla ve ark 2004). De Souza ve ark (2003a) ve Cao ve ark (2005, 2006) 2G “allel”linin periodontal hastalık için bir risk oluşturabileceğini tespit etmelerine karşın, diğer çalışmalar periodontal hastalık ve 2G alleli arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptamamıştır.

Bu araştırma Türk toplumunda, MMP-1 -1607 polimorfizminin periodontal doku sağlığına etkisini araştıran ilk araştırmadır. Bu çalışmada 1G alleleline ait frekanslarda sağlıklı bireylerde %46.2, orta şiddette periodontitiste %48.8, ve şiddetli periodontitiste %43 olarak tespit edilmiştir. 2G “allel”line ait frekanslar da sağlıklı bireylerde %53.8, orta şiddette periodontitiste %51.2, ve şiddetli periodontitiste %57 olarak tespit edilmiştir. “Allel” frekansları incelendiğinde bu sonuçlara en yakın frekansların Güney Amerika orijinli Brezilyalılar üzerinde Astolfi ve ark (2006) yaptığı çalışmada ve Çekler’de Holla’nın (2004) yaptığı çalışmada tespit edildiği, sarı ırkta bildirilen gen frekanslarının ise (Itagaki ve ark 2004) bu çalışmada Türk toplumunda saptanan edilen frekanslara en uzak grubu oluşturduğu görülmüştür. Bu araştırmanın sınırları dahilinde sağlıklı, orta şiddette ve şiddetli periodontitis teşhisi konulmuş bireyler arasında genetik polimorfizm açısından bir fark bulunmamıştır.

Genotipler değerlendirildiğinde Brezilyalılar üzerinde yapılan çalışmada 1G/1G genotipinin sağlıklı bireylerde %27, orta şiddette periodontitiste %20.8 ve şiddetli periodontitiste %7.7 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Genotip 1G/2G sağlıklı bireylerde %48.7, orta şiddette periodontitiste %54.2 ve şiddetli periodontitiste %46.15 oranında görülmüştür. Genotip 2G/2G’nin sağlıklı bireylerde %24.3, orta şiddette periodontitiste %25 ve şiddetli periodontitiste %46.15 oranında görüldüğü bildirilmiştir (De Souza 2003a). Brezilyada yapılan diğer bir araştırmada 1G/1G genotipinin sağlıklı bireylerde %22, periodontitisli bireylerde ise %19.3 oranında görüldüğü saptanmıştır. 1G/2G genotipinin ise sağlıklı bireylerde %47.7, periodontitisli bireylerde ise %43.9 oranında görüldüğü bulunmuştur. 2G/2G genotipinin sağlıklı bireylerde %30.3, periodontitisli bireylerde ise

%36.8 oranında görüldüğü bulunmuştur (Astolfi ve ark 2006). Sarı ırkta ise 1G/1G genotipinin sağlıklı bireylerde görülme oranı %14.8, periodontitisli bireylerde ise %12.7 dir. 1G/2G genotipinin ise sağlıklı bireylerde %43.7, periodontitisli bireylerde ise %40 oranında görüldüğü bulunmuştur. 2G/2G genotipinin sağlıklı bireylerde %41.5, periodontitisli bireylerde ise %47.3 oranında görüldüğü bulunmuştur (Itagaki ve ark 2004). Çinliler üzerinde yapılan çalışmada 1G/1G genotipinin sağlıklı bireylerde %26, orta şiddette periodontitiste %5.3 ve şiddetli periodontitiste %9.8 oranında görüldüğü bildirilmiştir. 1G/2G genotipinin sağlıklı bireylerde %50, orta şiddette periodontitiste %51.6 ve şiddetli periodontitiste %31.7 oranında görüldüğü bildirilmiştir. 2G/2G genotipinin sağlıklı bireylerde %24, orta şiddette periodontitiste %42.1 ve şiddetli periodontitiste %58.5 oranında görüldüğü bildirilmiştir (Cao ve ark 2006). Kafkas ırkı olan Çeklerde ise 1G/1G genotipinin sağlıklı bireylerde görülme oranı %30.1, periodontitisli bireylerde ise %37.6 dir. 1G/2G genotipinin ise sağlıklı bireylerde %47.4, periodontitisli bireylerde ise %46.6 oranında görüldüğü bulunmuştur. 2G/2G genotipinin sağlıklı bireylerde %22.4, periodontitisli bireylerde ise %15.8 oranında görüldüğü bulunmuştur (Holla ve ark 2004). Bu çalışmada 1G/1G genotipi sağlıklı bireylerde %20.4, orta şiddette periodontitisi olan hastalarda %21.4 ve şiddetli periodontitisi olanlarda %17.9 oranında bulunmuştur. 1G/2G genotipi sağlıklı bireylerde %51.9, orta şiddette periodontitisi olan hastalarda %54.8 ve şiddetli periodontitisi olanlarda %52.4 oranında saptanmıştır. Genotip 2G/2G'nin sağlıklı bireylerde %27.8, orta şiddette periodontitisi olan hastalarda %23.8 ve şiddetli periodontitisi olanlarda %29.8 oranında tespit edilmiştir. Genotip dağılımları karşılaştırıldığında sarı ırkta genotip dağılımının farklı olduğu ve 2G/2G genotipinin tüm diğer ırklardan çok daha yüksek seviyede görüldüğü anlaşılmıştır. Bu araştırmada herhangi bir genotip ile periodontal hastalık arasında ilişki bulunmamıştır. De Souza ve ark (2003a) yaptıkları araştırmada 2G/2G genotipinin periodontitis teşhisi konulmuş bireylerde yüksek oranda bulunduğunu rapor etmişlerdir. Aynı ırkta daha sonra yapılan başka

bir araştırmada ise 2G/2G genotipi ile periodontal hastalık arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (Astolfi ve ark 2006). Araştırıcı bu farklılığın ilk çalışmaya katılan hasta sayısının az olmasından veya ikinci çalışmada periodontal hastalığın şiddetinin sınıflanmamış olmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüştür.

#### **5.4 Biyokimyasal Parametreler**

Bu araştırmada DOS miktarının hastalığın şiddetiyle birlikte artış gösterdiği ve bu sonucun sigara içen ve içmeyen bireylerde de değişmediği saptandı. Literatüde DOS miktarının periodontal doku yıkımı ve artan akut iltihabi cevap sonucunda arttığı gösterilmiştir (Goodson ve ark 2003).

Matriks metalloproteinazların periodontal hastalıklar ile ilişkili olduğu ve özellikle MMP-1'in fibroblastlar tarafından "eksprese" edildiği ve kollajen yıkımına sebep olduğu saptanmıştır (Haerian ve ark 1995, Sorsa ve ark 1995, Haerian ve ark 1996, Emingil ve ark 2004, Lee ve ark 2004). Araştırmalarda MMP'lerin doku içindeki varlıklarını immunohistokimyasal yöntemlerle veya DOS'taki düzeyleri ELISA, "Immunoblot", "Immunodot", "işaretlenmemiş kollajen substratı", "radyoaktif işaretlenmiş kollajen substratı", "floresan substrat" ve "zymography" yöntemleri kullanılarak araştırılmaktadır (Uitto ve ark 2003). Bu araştırmada kolay kullanımı, yüksek hassasiyeti, sonuçların çabuk elde edilmesi ve yüksek sayıdaki örneğin analizine imkan vermesi nedeniyle ELISA yöntemi kullanılmıştır. Ancak, bu yöntemin dezavantajı "latent" ve "aktif" formdaki enzimleri ayıramamasıdır (Tüter ve ark 2002).

Literatürde DOS MMP-1 düzeyinin araştırıldığı çalışmaların bir kısmında test edilen örneklere tamamında MMP-1 konsantrasyonu ölçülememiş bu nedenle enzim düzeyleri sadece "var/yok" olarak analiz edilmiştir (Haerian ve ark 1995, Haerian ve ark 1996, Ingman ve ark 1996). Diğer taraftan Tüter ve ark (2002) DOS MMP-1 düzeylerini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise değerlendirilen 164 DOS örneğinden sadece 17 tanesinde MMP-1

konsantrasyonu ölçülememiştir. Bu çalışmada DOS örnekleri elde edilirken dört kağıt şerit havuzlama yapılarak bir eppendorf tüpe koyulmuştur. Dişeti oluğu sıvısı MMP-1 ölçümünün yapılabilmesi artmış enzim konsantrasyonuna veya kullanılan analiz yönteminine bağlı olabilir.

Matriks metalloproteinaz-1 dişetinde ve özellikle periodontal hastalıklarda yüksek konsantrasyonlara ulaşır ve hücre dışı yapının yıkımına neden olur (Haerian ve ark 1996). Literatürde ki çalışmalar değerlendirildiğinde bazı çalışmaların DOS MMP-1 düzeyleri ile periodontal hastalık arasında bir ilişki gösterirken (Tüter ve ark 2002), bazı araştırmalar enzim düzeylerini periodontal doku yıkımı ile ilişkilendirmemişlerdir (Haerian ve ark 1995, Haerian ve ark 1996, Ingman ve ark 1996). Bu çalışmada DOS MMP-1 total miktarları sağlıklı gruptan orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş gruplara doğru artış eğilimindeydi, ancak istatistiksel olarak önemli bulunmadı ( $p=0.07$ ). Bu çalışmada değerlendirilemeyen örneklerin on tanesi sağlıklı, üç tanesi orta şiddette periodontitis ve dört tanesi şiddetli periodontitis grubuna aitti. Bu örneklerin içerdikleri enzim düzeyi çok az olduğu için tespit edilemedikleri dikkate alınırsa DOS MMP-1 düzeylerinin periodontal hastalığın şiddeti ile artma eğiliminde olduğu ileri sürülebilir. Ayrıca, ELISA yönteminde aktif ve latent enzim düzeylerinin bir arada ölçülmesi de önemli bir limitasyondur.

Dişeti oluğu sıvısında TIMP-1 düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bir kısım araştırmacılar (Tüter ve ark 2002) sağlıklı bölgelerde DOS TIMP-1 seviyesini yüksek olduğunu ve bunun kollajenazların etkisini azalttığını, periodontitisli bölgelerde azalan TIMP-1 seviyesinin tedavi sonrasında yükselme eğiliminde olduğunu rapor etmişlerdir. Diğer taraftan bazı araştırmacılar (Haerian ve ark 1996, Alpagot ve ark 2001) ise periodontitisli bölgelerde artan kollajenaz düzeylerine karşı vücudun daha fazla TIMP-1 üretmesinin bir savunma mekanizması olduğunu ileri sürmektedir. Ingman ve ark. (1996) ise periodontitisli ve sağlıklı bölgeler arasında DOS TIMP-1 düzeyleri yönünden bir farklılık

bulamamışlardır. Bu çelişki DOS toplama yöntemlerinin farklı olması ve bakteriyel etkiler karşısında verilen cevapların bireysel farklılıklardan etkilenmesi ile açıklanabilir (Haerian ve ark 1996). Bu çalışmada da TIMP-1 total miktarları (pg/30sn) sağlıklı, orta şiddette ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde farklı değildi. Bu çalışmada DOS MMP-1 ve TIMP-1 konsantrasyonu (pg/μl) periodontal hastalığın şiddeti ile azalmaktaydı. Periodontal doku yıkımı ile artan DOS (μl) hacminin birim hacimdeki enzim konsantrasyonunun azalmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Doku yıkımında MMP-1/TIMP oranının periodontal hastalığın şiddetiyle arttığı ve enzim ve inhibitörü arasındaki bu dengenin bozulması ile doku yıkımının meydana geldiği rapor edilmiştir (Tüter ve ark 2002). Bu araştırmada periodontal hastalık, TIMP-1 düzeyi ve MMP-1/TIMP oranı ile periodontal hastalık arasında bir ilişki saptanmamıştır. Bu çalışmada periodontal doku sağlığına TIMP-1 etkisinin önemli bulunmaması MMP-1/TIMP-1 oranını etkilemiş olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan sadece TIMP-1 değil α2 makroglobulin gibi enflamasyonu azaltıcı diğer mekanizmaların da olduğu göz ardı edilmemelidir (Birkedal, 1993).

Sigara içen bireylerde sigaranın metabolik ürünleri nikotin ve damar daraltıcı özelliği (Salvi ve ark 2005) gösterilmesine karşın, bu çalışmada sigara içen ve içmeyen bireyler arasında DOS hacmi, MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri farklı bulunmamıştır. Literatürde DOS MMP-1 düzeylerini sigara kullanan ve kullanmayan bireylerde ayrı ayrı değerlendiren bir çalışma saptanmadığından elde edilen sonuçların diğer çalışmalarla kıyaslanması mümkün olmadı. Bu araştırmada sigara içme alışkanlığı olan bireylerde Gİ ve DOS hacmi (μl) sigara içme alışkanlığı olmayan gruba göre daha yüksek olmakla birlikte farklılık önemli değildi. Ancak bu çalışmada sigara kullanan ve kullanmayan bireylerde Gİ haricindeki parametreler farklı olduğu halde DOS (μl), MMP-1 ve TIMP-1 düzeylerinin farklı bulunmaması, diğer taraftan sigara içmeyen grupta MMP-1 ile SCD ve KAK'nın ilişkisi varken sigara içen grupta bu ilişkinin önemsiz olması ilginç bir sonuçtur. Literatürde sigara kullanımının kollajen

metabolizması üzerine olan etkilerinin insan derisi biyopsilerinde araştırıldığı bir çalışmada sigara kullanan ve kullanmayan bireyler arasında derideki MMP-1 düzeyleri yönünden bir fark bulunmazken sigara kullanımının MMP-8 düzeylerini iki kat arttırdığı rapor edilmiştir. Araştırmacılar kullanılan western blotting tekniği ile insan derisi biyopsilerinde hem aktif hem de latent MMP-1'leri sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan bireylerde farksız bulmuşlar ve bu sonucun ilginç olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, uzun süreli sigara içenlerde dokuda oluşan oksijen yetersizliğinin “hipoksinin” kollajen üretimini azaltırken, MMP-8 düzeyini arttırarak doku yıkımına yol açtığı sonucuna varmışlardır. Aynı çalışmada sigara kullanmayan bireylerdeki TIMP-1 düzeyi sigara kullananlara göre %14 oranında daha düşük bulunmuştur (Knuutinen ve ark 2002).

MMP-1'in -1607 polimorfizminde 2G “allel”lerinin hücreler arası yapının yıkımında etkin rol aldığı (Ye ve ark 2000, Lievre ve ark 2006) gösterilmiştir. Bu çalışmada MMP-1 total miktar (pg/30sn) ve konsantrasyonlarının (pg/μl) MMP-1 -1607 polimorfizminden etkilenmediği bulunmuştur. Matriks metalloproteinaz-1 -1607 polimorfizminin “1G/1G”, “1G/2G” ve “2G/2G” genotiplerinin MMP-1 ve TIMP-1 düzeylerine etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Sağlıklı, orta şiddette periodontitis ve şiddetli periodontitis teşhisi koyulmuş bireylerde ayrı ayrı değerlendirildiğinde de sonucun değişmediği saptandı. Ancak sigaraya göre alt grup dağılımı sayısal veri azlığı nedeniyle gerçekleştirilememiştir.

Bu çalışmanın sınırları dahilinde periodontal doku sağlığı aynı olan bireylerde MMP-1'in -1607 polimorfizminin DOS MMP-1 ve TIMP-1 düzeylerini etkilemediği bulundu. Ayrıca Türk toplumunda MMP-1 -1607 polimorfizminin periodontal hastalığa bir etkisi olmadığı sonucuna varıldı.

## SONUÇLAR:

Bu çalışmanın sınırları dahilinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

- 1) Matriks metalloproteinaz-1 -1607 polimorfizminin periodontal hastalığın şiddetinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı ve bu sonucun sigara içen ve içmeyen bireylerde de değişmediği,
- 2) sigara içme alışkanlığı olan bireylerin klinik periodontal parametreleri, sigara içme alışkanlığı olmayan bireylerden daha yüksek olduğu ancak Gİ'nin önemli bir fark göstermediği,
- 3) sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan bireyler arasında DOS hacmi, MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki farkın önemli olmadığı,
- 4) sigara içme alışkanlığı olmayan bireylerde MMP-1 total miktarı SCD ve KAK ile ilişkiliyken bu sonucun sigara içenlerde önemli olmadığı,
- 5) Dişeti oluğu sıvısı miktarının periodontal hastalığın şiddeti ile arttığı,
- 6) Dişeti oluğu sıvısı MMP-1 ve TIMP-1 enzim düzeylerinin MMP-1'in -1607 bölgesindeki "1G/1G", "1G/2G" ve "2G/2G" genotipinden etkilenmediği saptandı.

## 6. ÖZET

### Periodontal Hastalık ve MMP-1 Gen Polimorfizmi İle,

#### Dışeti Oluğu Sıvısı MMP-1 ve TIMP-1 Düzeyleri arasındaki İlişki

Bu çalışmanın amacı matriks metalloproteinaz (MMP)-1 -1607 polimorfizminin periodontal hastalık ve dışeti oluğu sıvısı (DOS) MMP-1 ve MMP doku inhibitörü (TIMP)-1 düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Çalışmaya toplam 180 birey dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen bireylerde kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, immün sistem hastalıkları yoktu veya İnsan immün yetmezlik virüsü “Human immunodeficiency virus” (HIV), Hepatit A, B veya C virusleri taşıyorlardı. Çalışmaya dahil olan bireylerin sondlama cep derinlikleri (SCD), klinik ataşman kaybı (KAK), plak indeksi (Pİ), gingival indeksi (Gİ), diş mobilitesi ölçüldü. Alveoler kemik kaybı (AKK) yüzdeleri ise panoramik radyograflardan schei cetveli yardımı ile ölçüldü. Bireylerin sigara kullanım miktarları da değerlendirildi. Dışeti oluğu sıvısı MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri ELISA kiti yardımıyla belirlendi. Matriks metalloproteinaz-1 -1607 polimorfizmi polimeraz zincir reaksiyonu “polimerase chain reaction” (PCR) ve kesim uzunluğu polimorfizmi “restriction fragment length polymorphism” (RFLP) analizi ile değerlendirildi.

Bu çalışmada 1G alleleline ait frekanslarda sağlıklı bireylerde %46.2, orta şiddette periodontitiste %48.8, ve şiddetli periodontitiste %43 olarak tespit edilmiştir. 2G “allel”line ait frekanslar da sağlıklı bireylerde %53.8, orta şiddette periodontitiste %51.2, ve şiddetli periodontitiste %57 olarak tespit edildi.

Bu araştırmanın sınırları içerisinde sigara içen ve içmeyen bireyler arasında DOS MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri önemli bir fark göstermedi ancak sigara içmeyen bireylerde KAK'nın ve SCD'nin MMP-1 total miktarı ile ilişkisi anlamlıydı, ancak bu durum sigara içenlerde önemli değildi.

Bu çalışmada sağlıklı ve periodontitisli bireyler arasında MMP-1 genotip dağılımlının benzer olduğu ve polimorfizmin periodontal hastalık şiddeti ve DOS MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri ile ilişki göstermediği bulunmuştur.

## 7. SUMMARY

### **The Relationship Among Periodontal Disease, MMP-1 Gene Polymorphism and Gingival Crevicular Fluid MMP-1, TIMP-1 Levels**

The aim of this study was to evaluate the relations among periodontal disease, matrix metalloproteinase (MMP)-1 -1607 polymorphism and gingival crevicular fluid (GCF) MMP-1 and tissue inhibitor of MMP (TIMP)-1 levels.

A total of 180 subjects were included in this study. Subjects had no history of cardiovascular diseases, diabetes mellitus, immunogenic disorders, or carrying Human immunodeficiency virus (HIV), Hepatitis A, B or C viruses. Clinical parameters including probing depth (PD), clinical attachment loss (CAL), plaque indeks (PI), gingival indeks (GI), tooth mobility were measured. Alveolar bone loss (ABL) was measured by means of schei ruller on panoramic radiographs. Cigarette smoking status of the subjects were also assessed. Levels of GCF MMP-1 and TIMP-1 were analyzed with ELISA. Polymorphism of MMP-1 -1607 was determined with polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis.

In this study, 1G allele was observed at a frequency of %46.2 at healthy subjects, %48.8 at mild to moderate periodontitis subjects and %43 at severe periodontitis subjects. The 2G allele was observed at a frequency of of %53.8 at healthy subjects, %51.2 at mild to moderate periodontitis subjects and %57 at severe periodontitis subjects.

Within the limits of this study the GCF MMP-1 and TIMP-1 levels were not different significantly between smokers and non smokers but among non smokers the CAL and PD values were correlated with MMP-1 total amounts. There were no corralation between clinical parameters and biochemical findings in the smokers group.

In this study the MMP-1 -1607 genotype distribution was similar in both healthy and periodontitis groups and it did not seem to be associated with susceptibility to periodontitis and GCF MMP-1 and TIMP-1 levels.

## 8. LİTERATÜR LİSTESİ

- Aldred MJ, Savarirayan R, Lamande SR, Crawford PJM (2002)** *Clinical and radiographic features of a family with autosomal dominant amelogenesis imperfecta and taurodontism*, Oral Diseases, 8,62-68.
- Alpagot T, Bell C, Lundergan W, Chambers DW, Rudin R (2001)** *Longitudinal evaluation of GCF MMP-3 and TIMP-1 levels as prognostic factors for progression of periodontitis*, J Clin Periodontol, 28, 353–359.
- Armitage GC (1999)** *Development of a classification system for periodontal diseases and conditions*, Annals of Periodontol, 4,1-6
- Armitage GC, Wu Y, Wang H, Sorrel J, Giovine FS, Duff GW (2000)** *Low prevalence of a periodontitis associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage*, J Periodontol, 71,164-171.
- Astolfi CM, Shinohara AL, da Silva RA, Santos MCLG, Line SRP, de Souza AP (2006)** *Genetic polymorphisms in the MMP-1 and MMP-3 gene may contribute to chronic periodontitis in a Brazilian population*, J Clin Periodontol, 33,699-703.
- Ataoglu H, Alptekin NÖ, Haliloğlu S, Gürsel M, Ataoglu T, Serpek B, Durmuş E (2002)** *Interleukin-1 $\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid*, Clin Oral Imp Res, 13,470-476.
- Azmak N, Atilla G, Luoto H, Sorsa T (2002)** *The effect of subgingival controlled-release delivery of chlorhexidine chip on clinical parameters and matrix metalloproteinase-8 levels in gingival crevicular fluid*, J Periodontol, 73,608-615.
- Bartold PM, Narayanan AS (2006)** *Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues*, Periodontol 2000, 40,29-49.

- Bernaards CM, Twisk JWR, Snel J, Mechelen WV, Kemper HCG (2001)** *Is calculating pack years retrospectively a valid method to estimate life time tobacco smoking: a comparison between prospectively calculated pack years and retrospectively calculated pack years*, *Addiction*, 96,1653-1662.
- Birkedal HH (1993)** *Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases*, *J Periodontol*, 64,474-484.
- Birkedal HH (1994)** *Host mediated extracellular matrix destruction by metalloproteinases in "Molecular pathogenesis of periodontal disease"* Ed by R Genco, 191-197, American Society for Microbiology, Washington DC.
- Boström L, Bergström J, Dahle'n G, Linder LE (2001)** *Smoking and subgingival microflora in periodontal disease*, *J Clin Periodontol*, 28,212–219.
- Cao Z, Li C, Jin L, Corbet EF (2005)** *Association of matrix metalloproteinase-1 promoter polymorphism with generalized aggressive periodontitis in a Chinese population*, *J Periodont Res*, 40, 427-431.
- Cao Z, Li C, Zhu G (2006)** *MMP-1 promoter gene polymorphism and susceptibility to chronic periodontitis in a Chinese population*, *Tissue Antigens*, 68, 38-43.
- Carranza FA, Rapley JW (2002)** *Clinical features of gingivitis p.269 "Clinical Periodontology"* Ed.by FA Carranza, MG Newman ,84-103,WB Saunders Co Newyork.
- Choi D-H, Moon I-S, Choi B-K, Paik J-W, Kim Y-S, Choi S-H, Kim C-K (2004)** *Effects of sub-antimicrobial dose doxycycline therapy on crevicular fluid MMP-8, and gingival tissue MMP-9, TIMP-1 and IL-6 levels in chronic periodontitis*, *J Periodont Res*, 39,20–26.
- D'Alonzo RC, Selvamurugan N, Krane SM, Partridge NC (2002)** *Bone proteinases in "Principles of bone biology"* ed by Krane SM 251-259 second edition Academic Press, New York.

- Dahan M, Nawrocki B, Elkarim R, Soell M, Bolcato-Bellemin A-L, Birembaut P, Tenenbaum H (2001)** *Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva*, J Clin Periodontol, 28,128–136.
- De Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Brito Jr RB, Line SRP (2003a)** *MMP-1 promoter polymorphism: association with chronic periodontitis severity in a Brazilian population*, J Clin Periodontol, 30,154-158.
- De Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Brito Jr RB, Line SRP (2003b)** *Analysis of the TGF- $\beta_1$  promoter polymorphism (C-509-T) in patients with chronic periodontitis*, J Clin Periodontol, 30,519-523.
- Domeij H, Yucel-Lindberg T, Modeer T (2002)** *Signal pathways involved in the production of MMP-1 and MMP-3 in human gingival fibroblasts*, Eur J Oral Sci, 110,302-306.
- Dowsett SA, Archila L, Foroud T, Koller D, Eckert G, Kowolik MJ (2002)** *The effect of shared genetic and environmental factors on periodontal disease parameters in untreated adult siblings in Guatemala*, J Periodontol, 73,1160-1168.
- Ejeil AL, Igondjo S, Ghomrasseni S, Pellat P, Godeau G, Gogly B (2003)** *Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva*, J Periodontol, 74,188-195.
- Emingil G, Kuula H, Sorsa T, Atila G (2006)** *Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-25 and -26 levels in periodontal disease*, J Periodontol, 4,664-671.
- Erdemir EO, Duran İ, Haliloğlu S (2004)** *Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in patients with chronic periodontitis*, J Clin Periodontol, 31,99-104.
- Feldman RS, Bravacos JS, Rose CL (1983)** *Associations between smoking, different tobacco products and periodontal indexes*, J Periodontol, 54,481-488.
- Flemmig TF (1999)** *Periodontitis*, Annals of Periodontol, 4,32-37.

- Fredrikson M, Bergström K, Asman B (2002)** *IL-8 and TNF- $\alpha$  from peripheral neutrophils and acute phase proteins in periodontitis*, J Clin Periodontol, 29,123-128.
- Giannopoulou C, Kama JJ, Mombelli A, (2003)** *Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level*, J Clin Periodontol, 30,145-153.
- Gold SI (1985)** *Pæriodontics. The past*, J Clin Periodontol, 12,257-269.
- Goodson JM (2003)** *Gingival crevice fluid flow*, Periodontol, 2000 31,43-54.
- Graswinckel JEM, van der Velden U, van Winkelhoff AJ, Hoek FJ, Loss BG (2004)** *Plasma antibody levels in periodontitis patients and controls*, J Clin Periodontol, 31,562-568.
- Griffiths AJF, Gelbart WM, Lewontin RC, Miller JH (2002).** *Modern Genetic Analysis* 221-223, WH Freeman and Company USA
- Güntsch A, Erler M, Preshaw PM, Sigusch BW, Klinger G, Glockmann E (2006)** *Effect of smoking on crevicular polymorphonuclear neutrophil function in periodontally healthy subjects*, J Periodont Res, 41,184–188.
- Haake SK (1996)** *Periodontal Microbiology* in " Clinical Periodontology" Ed.by FA Carranza, MG Newman ,84-103, WB Saunders Co Newyork.
- Haerian A, Adonogianaki E, Money J, Docherty JP, Kinane DF (1995)** *Gingival crevicular stromelysin, collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases levels in healthy and diseased sites*, J Clin Periodontol, 22,505-509.
- Haerian A, Adonogianaki E, Money J, Manos A Kinane DF (1996)** *Effects of treatment on gingival crevicular collagenase, stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases and their availability to predict response to treatment*, J Clin Periodontol, 23,83-91.
- Haffajee AD, Socransky SS (2001)** *Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles*, J Clin Periodontol, 28,283-295.

- Hanes P, Schuster G, Lubas S (1991)** *Binding, uptake and release of nicotine by human gingival fibroblasts*, J. Periodontol, 62,147-152.
- Hart TC (1996)** *Genetic risk factors for early-onset periodontitis*, J Periodontol, 67,355-366.
- Hartl DL, Jones EW (2000)** *DNA Structure and DNA manipulation* in 'Genetics' ed by Hartl DL, Jones EW 37-86 Jones and Bartlett Publishers Boston.
- Hasegawa T, Watase H (2004)** *Multiple risk factors of periodontal disease: a study of 9260 Japanese non-smokers*, Geriatrics and Gerodontology International, 4, 37-43.
- Hidalgo-Rivera F (2003)** *Smoking and periodontal disease*, Periodontology 2000, 32, 50-58.
- Holla LI, Jurajda M, Fassman A, Dvorakova N, Znojil V, Vacha J (2004)** *Genetic variations in the matrix metalloproteinase-1 promoter and risk of susceptibility and/or severity of chronic periodontitis in the Czech population*, J Clin Periodontol, 31,685-690.
- Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF et al.(1996)** *Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients*, J Clin Periodontol, 23,1127-1132.
- Irwin CR, Myrillas TT, Taynor P, Leadbetter N, Cawston TE (2002)** *The role of soluble interleukin (IL)-6 receptor in mediating the effects of IL-6 in matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 expression by gingival fibroblasts*, J Periodontol, 73,741-747.
- Itagaki M, Kubota T, Tai H, Shimada Y, Morazumi T, Yamazaki K (2004)** *Matrix metalloproteinase-1 and 3 gene promoter polymorphisms in Japanese patients with periodontitis*, J Clin Periodontol, 31,764-769.
- Jenkins K, Javadi M, Borghaei RC ( 2004)** *Interleukin-4 supresses IL-1 induced expression of matrix metalloproteinase-3 in human gingival fibroblasts*, J Periodontol, 75,283-291.

- Kamma JJ, Giannopoulou C, Vasdekis VGS, Mombelli A (2004)** *Cytokine profile in gingival crevicular fluid of aggressive periodontitis: influence of smoking and stress*, J Clin Periodontol, 31,894-902.
- Kanehira T, Shibata K, Kashiwazaki H, Inoune N, Manabu M (2006)** *Comparison of antioxidant enzymes in saliva of elderly smokers and non smokers*, Gerodontology, 23,38-42.
- Kiili M, Cox SW, Chen HW, Wahlgren J, Maisi P, Eley BM, et al (2002)** *Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue*, J Clin Periodontol, 29: 224–232.
- Kinane DF, Hart TC (2003)** *Gene and gene polymorphisms associated with periodontal disease*, Crit Rev Oral Biol Med, 14,430-449.
- Knuutinen A, Kokkonen N, Risteli J, Vahakangas K, Kallioinen M, Salo T, et al. (2002)** *Smoking affects collagen synthesis and extracellular matrix turnover in human skin*, British Journal of Dermatology, 146, 588-594.
- Kornman KS, Newman MG (2000)** *Role of genetics in assessment, risk, and management of adult periodontitis* In 'Periodontal Medicine' Ed by LF Rose,45-62, BC Decker Inc Hamilton
- Kornman KS (2003)** *Developing a treatment plan* In 'Fundamentals of Periodontics' ed by Wilson TG, Kornman KS 319-322 Quintessence books Chicago.
- Kuper H, Boffetta P, Adami HO (2002)** *Tobacco use and cancer causation: association by tumour type*, J Intern Med, 252,206-224.
- Lee HM, Ciancio SG, Tüter G, Ryan ME, Komaroff E, Golub LM, (2004)** *Subantimicrobial dose doxycycline efficacy as a matrix metalloproteinase inhibitor in*

*chronic periodontitis patients is enhanced when combined with a non-steroidal antiinflammatory drug, J Periodontol, 75,453-463.*

**Lewin B (2000)** *Genes VII* Oxford University Pres, Oxford.

**Listgarten MA (1985)** *Microbiological diagnosis of periodontitis, J Periodontol, 4,367-369.*

**Lievre A, Milet J, Carayol J, Corre D, Milan C, Pariente A et al (2006)** *Genetic polymorphisms of MMP-1, MMP-3 and MMP-7 promoter and risk for colorectal adenoma, BMC Cancer, 6,270-278.*

**Löe H, Silness J (1963)** *Periodontal disease in pregnancy, Acta Odontol Scand, 21,533*

**Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E (1986)** *Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age, J Clin Periodontol, 13,431-445.*

**Machtei EE, Hausmann E, Dunford R, Grossi S, Ho A, Chandler J, et al. (1999)** *Longitudinal study of predictive factors for periodontal disease and tooth loss, J Clin Periodontol, 26, 374-380.*

**Mäntyla P, Stenman M, Kinane D, Salo T, Suomalainen K, Tikanoja S, Sorsa T (2006).** *Monitoring periodontal disease status in smokers and nonsmokers using a gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8-specific chair-side test, J Periodont Res, 1-8.*

**Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, Sparks BS, Brooks CN, Koertge TF et al (2000)** *Evidence of a Substantial Genetic Basis for Risk of Adult Periodontitis, J Periodontol, 71,1699-1707.*

**Michalowicz BS, Wolff LF, Klump D, Hinrichs JE, Aeppli DM, Bouchard TJ et al (1999)** *Periodontal bacteria in adult twins, J Periodontol, 70,263-273.*

**Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H (2004)** *Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. J Clin Periodontol, 31,267-272.*

- Nisengard RJ, Newman MG, Sanz M (1996)** *Host response: Basic concepts Microbiology* in " *Clinical Periodontology*" Ed.by FA Carranza, MG Newman ,111-119,WB Saunders Co Newyork.
- Nomura T, Ishii A, Shimizu H, Taguchi N, Yoshie H, Kusakari H,et al (2000)** *Tissue inhibitor of metalloproteinases-1, matrix metalloproteinases- 1 and -8, and collagenase activity levels in peri-implant crevicular fluid*, Clin Oral Impl Res, 11, 430–440.
- Novak KF, Novak MJ (2002)** *Risk assessment* In'Clinical Periodontology Ed by Newman MG, Takei HH, Carranza FA 469-474 WB Saunders Company New York.
- Nunn ME (2003)** *Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors*, Periodontol 2000, 32,11-23.
- Offenbacher S, Lief S, Boggess KA, Murtha PN, Medianos PN, Champagne CME et al (2001)** *Maternal periodontitis and prematurity. Part I: Obstetric outcomes or prematurity and growth restriction*, Ann Periodontol, 6,164-174.
- Ojima M, Hanioka T, Tanaka K, Inoshita E, Aoyama H (2006)** *Relationship between smoking status and periodontal conditions: Findings from national databases in Japan*, J Periodont Res, 41,573-579.
- Page R (1991)** *The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease*, J Periodontal Res, 26,230-242.
- Persson L, Bergström J, Gustafsson A, Asman B (1999)** *Tobacco smoking and gingival neutrophil activity in young adults*, J Clin Periodontol, 26,9-13.
- Petropoulos G, Mc kay IJ, Hughes FJ (2004)** *The association between neutrophil numbers and IL-1 $\alpha$  concentrations in gingival crevicular fluid of smokers and non smokers with periodontal disease*, J Clin Periodontol, 31,390-395.
- Pozo P, Valenzuela MA, Melej C, Zaldivar M, Puente J, Martinez B et al (2005)** *Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and*

*clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients, J Periodontal Res, 40,199-207.*

**Preber H, Bergström J (1985)** *The effect of non surgical treatment on periodontal pockets in smokers and non smokers, J. Clin Periodontol, 13,319-323.*

**Preber H, Bergström J (1990)** *Effect of cigarette smoking on periodontal healing following surgical therapy, J. Clin Periodontol, 17,324-328.*

**Rawlinson A, Grummit JM, Walsh TF, Douglas CWI (2003)** *Interleukin 1 and receptor antagonist levels in gingival crevicular fluid in heavy smokers versus non smokers, J Clin Periodontol, 30,42-48.*

**Robinson PJ, Siew C, Gruninger SE, Chang S-B, Turner DW, Harper DS (1992)** *Transamidase and collagenase activity in healthy and diseased human gingival tissues, J Oral Pathol Med, 21,471-476.*

**Rutter JL, Mitchel TI, Buttice G, Meyers J ve ark. (1998)** *A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase 1 promoter creates an Ets binding site and augments transcription, Cancer Research, 58,5321-5325.*

**Salvi GE, Ramseier CA, Kandyaki M, Sigrist L, Awedowa E, Lang NP (2005)** *Experimenta lgingivitis in cigarette smokers. A clinical and microbiological study, J ClinPeriodontol, 32,441-447.*

**Schenkein HA (2002)** *Finding genetic risk factors for periodontal diseases: is the climb worth the view, Periodontol 2000, 30-79-90.*

**Shapiro L. Sklesinger M. Bimstein E (1997)** *Possible autosomal-dominant inheritance of prepubertal periodontitis in an extended kindred. J Clin Periodontol, 24,388-393.*

**Silness P, Loe H (1964)** *Periodontal disease in pregnancy, Acta Odontol Scand, 22,121*

- Socransky SS, Haffajee AD (2003)** Microbiology of Periodontal Disease in “Clinical Periodontology and implant dentistry” Ed.by J Lindhe, T Karring, NP Lang, 106-139, Blackwell Munksgaard Denmark
- Sorsa T, Ding Y-L, Ingman T, Salo T, Westerlund U, Haapassalo M et al (1995)** *Cellular source, activation and inhibition of dental plaque collagenase*, J Clin Periodontol, 22,709-717.
- Su L, Zhou W, Park S, Wain JC, Lynch TJ, Liu G (2005)** *Matrix metalloproteinase-1 polymorphism and lung cancer risk*, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14(3), 567-570.
- Takashiba S, Naruishi K (2006)** *Gene polymorphisms in periodontal health and disease*, Periodontol 2000, 40,94-106.
- Tatakis DN, Trombelli L, (2004a)** *Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis I. Background review and rationale*, J Clin Periodontol, 31,229-238.
- Tatakis DN, Trombelli L, (2004b)** *Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis II. Identification of ‘High-responder’ and ‘low-responder’ subjects*, J Clin Periodontol, 31,239-252.
- Tatakis DN, Trombelli L, (2004c)** *Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis III. Response of ‘High-responders’ and ‘low-responders’ to therapy*, J Clin Periodontol, 31,253-259.
- Teronen O, Konttinen YT, Lindqvist C, Salo T, Ingman T, Lauhio A, et al (1997)** *Human neutrophil collagenase MMP-8 in peri-implant sulcus fluid and its inhibition by clodronate*, J Dent Res, 76, 1529-1537.
- Tüter G, Kurtiş B, Serdar M (2002)** *Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1*, J Periodontol, 73,487-493.

- Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C (2003)** *Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid*, *Periodontol* 2000, 31,77-104.
- Van der Velden U, Varoufaki A, Hutter JW, Timmerman MF, Winkelhoff AJ, Loss BG et al. (2003)** *Effect of smoking and periodontal treatment on the subgingival microflora*, *J Clin Periodontol*, 30,603-610.
- Villela B, Cogen RB, Bartolucci AA, Birkedal-Hansen H (1987)** *Collagenolytic activity in crevicular fluid from patients with chronic adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and gingivitis, and from healthy control subjects* *J Periodontal Res*, 22,381-389.
- Ye S (2000)** *Polymorphism in matrix metalloproteinase gene promoters: implication in regulation of gene expression and susceptibility of various diseases*, *Matrix Biology*, 19,623-629.

## 9. ÖZGEÇMİŞ

3 Mart 1977'de Isparta'nın Keçiborlu ilçesinde doğdu. İlkokulu Isparta Fevzipaşa ilkokulunda, orta öğrenimini Antalya Anadolu Lisesinde tamamladıktan sonra Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesinden 2000 yılında mezun oldu. 2001 yılında Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D. doktora öğrenimine başladı. Evlidir ve halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak görevine devam etmektedir.

## 10. TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın genetik analizlerindeki katkılarından dolayı Tıbbi Genetik Bilim dalı Başkanı sayın Prof.Dr. Hasan Acar'a, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyesi Yard.Doç.Dr. Erdoğan Eşref Hakkı ve Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Bölümü öğretim üyesi Doç.Dr. S. Sema Hakkı'ya, Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji laboratuvarındaki yardımlarından dolayı Araş.Gör. Zeynep Özbek, Araş.Gör. Emine Pınarkara'ya ve Araş.Gör. Emine Atalay'a, biyokimyasal parametrelerin analizindeki yardımlarından dolayı Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı Öğretim Üyesi sayın Doç.Dr. Seyfullah Haliloğlu'na, verilerin istatistiksel analizindeki yardımlarından dolayı Fen Edebiyat Fakültesi İstatistik Anabilim Dalı Başkanı Doç.Dr. Aşır Genç ve Araş.Gör. Murat Erişoğlu'na, çalışmalarım boyunca bana sürekli destek olan sevgili eşim ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.