

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
PERİODONTOLOJİ ANA BİLİM DALI



PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA KALSİTONİN  
GEN-İLİŞKİLİ PEPTİD (CGRP) GEN POLİMORFİZMİNİN  
İNCELENMESİ

Doktora Tezi

**Amir Masoud BOZORGİ**

Danışman

**Prof. Dr. Umur SAKALLIOĞLU**

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından 1904.21.001 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN  
2022

## TEZ KABUL VE ONAYI

Amir Masoud BOZORGİ tarafından, Prof. Dr. Umur SAKALLIOĞLU danışmanlığında hazırlanan “PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA KALSİTONİN GEN-İLİŞKİLİ PEPTİD (CGRP) GEN POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 23.12.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Umur SAKALLIOĞLU Ondokuz Mayıs Üniversitesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Müge LÜTFİOĞLU Ondokuz Mayıs Üniversitesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Doç. Dr. Şengül TURAL Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Murat İnanç CENGİZ Bülent Ecevit Üniversitesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Doç. Dr. Zeynep Pınar Yücel Giresun Üniversitesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ali BOLAT  
Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet  (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır

21 /10 / 2022

Amir Masoud BOZORGİ

## TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

**Tez Başlığı:** PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA KALSİTONİN GENİLİŞKİLİ PEPTİD (CGRP) GEN POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 22.11.2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 13

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

22 /11 / 2022

Prof. Dr. Umur SAKALLIOĞLU

## ÖZET

### PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA KALSİTONİN GEN-İLİŞKİLİ PEPTİD (CGRP) GEN POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

Amir Masoud BOZORGİ  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Periodontoloji Ana Bilim Dalı  
Doktora, Aralık/2022

Danışman: Prof. Dr. Umur SAKALLIOĞLU

**Amaç:** Günümüzde periodontal hastalıkların patogenezi ve patolojisinde gen polimorfizmlerinin potansiyel etkileri bilinmektedir. Çalışmamızda, bu anlamda literatürde yeterli veri olmayan, *CGRP* gen polimorfizmi ve neden olabileceği fenotipik değişikliklerin periodontitis üzerine etkisi araştırılmıştır.

**Materyal ve Metot:** Elli periodontitisli ve 50 periodontal sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. Bu popülasyon 18 yaş üstü, sistemik sağlıklı, sigara kullanmayan ve akraba olmayan gönüllülerden oluşturuldu. Periodontal muayene ve değerlendirmelerle Periodontitis ve Kontrol çalışma-grupları belirlendikten sonra her gruptan alınan kan örneklerinde *CGRP* geni -624 (T/C)/-590 (C/G) bölge polimorfizmleri, DNA izolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu işlemiyle çoğaltma sonrasında DNA sekans dizileme işlemiyle incelendi. Grupların Silness-Löe plak indeksi (Pİ), Löe-Silness gingival indeksi (Gİ), sondalamada kanama (SK), cep derinliği (CD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) verileri çalışma parametreleri olarak kullanılarak polimorfizm-periodontal durum ilişkisi değerlendirildi.

**Bulgular:** *CGRP* geni -624 (T/C)/-590 (C/G) bölge polimorfizimleri 2 grup arasında genotip dağılımları ( $p= 0.175$ ) ve alel frekansları ( $p= 0.0614$ ) açısından anlamlı bir fark göstermedi. Klinik parametreler ve genotipler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ise gruplarda bu anlamda da bir fark bulunmadı ( $p> 0.05$ ).

**Sonuç:** Çalışmamız sınırları dahilinde bulgularımız, *CGRP* geni -624 (T/C)/-590 (C/G) bölge polimorfizmlerinin periodontitis oluşumunda etkili değişimlere yol açmadığı fikrini desteklemektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Periodontitis, Nöropeptid, CGRP, Genetik polimorfizm

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF CALCITONIN GENE-RELATED PEPTIDE (*CGRP*) GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH PERIODONTITIS

Amir Masoud BOZORGI  
Ondokuz Mayıs University  
Institute of Graduate Studies  
Department of Periodontology  
Ph.D., December/2022

Supervisor: Prof. Dr. Umur SAKALLIOĞLU

**Aim:** Potential effects of gene polymorphisms on the pathogenesis and pathology of periodontal diseases are known at the present time. In our study, the impact of *CGRP* gene polymorphism and the possible phenotypic alterations it may cause on periodontitis, on which inadequate data are provided to literature in this regard, has been investigated.

**Material and Methods:** Fifty individuals with periodontitis and 50 individuals without periodontitis were included in the study. This population was composed of volunteers that were >18 years of ages, with systemic health, non-smoker and unrelated genetically. Following allocation of Periodontitis and Control study-groups by periodontal examination and assessments, the *CGRP* gene -624 (T/C)/-590 (C/G) region polymorphisms were investigated in the blood samples taken from the groups, by first DNA isolation and Polymerase Chain Reaction amplification and then by DNA sequencing procedures. Silness-Löe plaque index (PI), Löe-Silness gingival index (GI), bleeding on probing (BOP), pocket depth (PD) and clinical attachment level (CAL) data of the groups were utilized as the study parameters for the evaluation of polymorphism-periodontal condition relationship.

**Results:** There were no significant differences between the *CGRP* gene -624 (T/C)/-590 (C/G) region polymorphisms of 2 groups, as the genotype distributions ( $p= 0.175$ ) and allele frequencies ( $p= 0.0614$ ). When the relationship between the clinical parameters and genotypes was evaluated, it was also not significant differences between the groups ( $p> 0.05$ ).

**Conclusion:** Our findings, under the limits of our study, suggest that *CGRP* gene -624 (T/C)/-590 (C/G) region polymorphisms may not entail alterations that are effective in periodontitis formation.

**Keywords:** Periodontitis, Neuropeptide, *CGRP*, Genetic polymorphism

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışma sürecinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren danışman hocam Prof. Dr. Umur SAKALLIOĞLU'na

Çalışma konusunun belirlenmesinde ve çalışmanın hazırlanma sürecinin her aşamasında bilgilerini, tecrübelerini ve değerli zamanlarını esirgemeyerek bana her fırsatta yardımcı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Müge LÜTFİOĞLU, Prof. Dr. Nurten KARA ve Doç. Dr. Şengül TURAL'a

Laboratuvar çalışmalarının yürütülmesinde, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yardımda bulunarak yol gösteren Öğ. Görevlisi Dr. Eda UĞURTAY'a

Teşekkürlerin az kalacağı, bana üniversite hayatım boyunca kazandırdıkları her şey için tüm üniversite hocalarıma

Hayatım boyunca maddi ve manevi destekleri ile yanımda olan, beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Amir Masoud BOZORĞI

# İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI .....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI .....	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
TABLolar DİZİNİ .....	ix
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	5
2.1. Periodonsiyum ve Periodontal Hastalık.....	5
2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması .....	5
2.2.1. Periodontal Sağlık.....	6
2.2.2. Gingivitis .....	7
2.2.3. Periodontitis .....	7
2.2.3.1. Evre I Periodontitis .....	8
2.2.3.2. Evre II Periodontitis.....	8
2.2.3.3. Evre III Periodontitis .....	9
2.2.3.4. Evre IV Periodontitis .....	10
2.2.3.5. Periodontitis Dereceleri .....	10
2.3. Periodontitis Patogenezi .....	11
2.3.1. Periodontitis Histopatolojisi .....	12
2.3.2. Periodontitis Sürecinde B Hücreleri .....	14
2.3.3. Periodontitiste Makrofajlar (M1 ve M2) .....	15
2.3.4. Dişeti İltihabının Periodontitise Dönüşmesi .....	15
2.3.4.1. Th1 ve Th2 Seviyeleri .....	15
2.3.4.2. Hücre Aracılı Bağışıklığın Baskılanması .....	16
2.3.4.3. T hücreleri ve Homeostaz.....	16
2.3.5. Nöropeptidler .....	17
2.3.5.1. Sitokinler ve Sinyal Süpresörleri.....	18
2.3.5.2. Nöropeptidlerin Etkileri.....	19
2.3.5.3. Dişeti ve Periodontal Dokularda Nöropeptidler .....	20
2.3.5.4. Nöropeptidler ve Periodontitis.....	20
2.3.5.5. Nöropeptidlerin Kemik Üzerindeki Etkisi.....	23
2.4. Periodontal Hastalıkta Genetik Duyarlılık.....	24
2.4.1. Periodontitis ve Genetik İlişkisi .....	25
2.4.2. Genel Genetik Kavramlar .....	28
2.4.3. Gen Polimorfizmi ve Periodontal Hastalıklarla İlişkisi .....	30
2.5.2. CGRP'nin Moleküler Genetiği.....	35
2.5.3. CGRP İzofomları.....	36
2.5.4. CGRP'nin Fizyolojik Fonksiyonları .....	36
2.5.4.1. Kardiyovasküler Sistemde CGRP Fonksiyonları .....	36
2.5.4.2. Merkezi Sinir Sisteminde CGRP Fonksiyonları.....	37
2.5.5. Periodontitis Sürecinde CGRP'nin Rolü .....	37
2.5.6. Kalsitonin İlişkili Polipeptit $\alpha$ (CALCA) .....	38
2.5.6.1. CALCA Geninin Yapısı .....	38
2.5.6.2. CALCA Gen Polimorfizmi .....	38
3. MATERYAL VE METOT .....	39
3.1. Klinik Değerlendirme .....	39
3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması .....	40

3.3. Kan Örneklerinin Alınması.....	41
3.4. DNA İzolasyonu .....	42
3.5. Primer Dizaynı ve PCR .....	43
3.6. Sanger Dizileme Yöntemi.....	44
3.7. İstatistiksel Analiz .....	46
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>47</b>
4.1. Demografik Bulgular .....	47
4.2. Klinik Bulgular .....	47
4.3. Laboratuvar Bulguları.....	48
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>50</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>56</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>57</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>70</b>
Ek 1- Etik Kurul Onayı.....	70
Ek 2- Hasta Onay Formu Örneği.....	71
<b>ÖZ GEÇMİŞ.....</b>	<b>75</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

AMLR	: Otolog mikst lenfosit reaksiyonu
Bp	: Baz çifti
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DOS	: Dişeti oluğu sıvısı
FcγR	: FC gama reseptörü
Fmlp	: Formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine
CALCA	: Kalsitonin ilişkili polipeptit alfa
CALCB	: Kalsitonin ilişkili polipeptit beta
CD	: Cep derinliği
CGRP	: Kalsitotin gen ilişkili peptit
CLR	: Calcitonin receptor-like receptor
Gİ	: Gingival indeks
HLA	: Human lökosit antijen
Ig	: İmmünoglobulin
IL-1	: İnterlökin 1
IL-1α	: İnterlökin 1 alfa
IL-1β	: İnterlökin 1 beta
IL-6	: İnterlökin 6
IL-12	: İnterlökin 12
KAS	: Klinik ataçman seviyesi
LPS	: Lipopolisakkarit
MAF	: Minör alel frekansı
MMP	: Matrix metalloproteinaz
MMP-1	: Matrix metalloproteinaz 1
MMP-3	: Matrix metalloproteinaz 3
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
NF-kB	: Nuclear factor kappa B
NKA	: Nörokinin A
NPY	: Nöropeptit Y
OR	: Olasılık oranı
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
Pİ	: Plak indeksi

PGE <sub>2</sub>	: Prostaglandin E <sub>2</sub>
PMN	: Polimorfonükleer nötrofil
RAMP	: Receptor activity-modifying proteins
RNA	: Ribonükleik asit
SK	: Sondalamada kanma
SNP	: Tek nükleotit polimorfizmi
SOCS	: Supressor of Cytokine Signalling
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
TGF- $\beta$	: Transforme edici büyüme faktörü beta
Th-1	: T helper 1
Th-2	: T helper 2
TLR	: Toll-like reseptörü
TNF	: Tümör nekroz faktör
TNF- $\alpha$	: Tümör nekroz faktör alfa

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Periodontal enflamasyonun oluşumu .....	12
Şekil 2.2. Periodontitis lezyonlarında hücre dağılımı.....	13
Şekil 2.3. Genotip ve periodontitis ilişkisi .....	27
Şekil 2.4. Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP).....	31
Şekil 2.5. İnsan geninin genel yapısı ve polimorfizmlerin oluşabileceği bölgeler .....	31
Şekil 2.6. İnsan CALCA ve CALCB izoformlarının amino asit kalıntıları.....	35
Şekil 2.7. CALC I geninden kalsitonin ve CGRP üretimi .....	35
Şekil 2.8. CALCA Geni Yapısı .....	38
Şekil 3.1. Periodontal sonda (William's sonda, Hu-Friedy Mfg. Co., LLC, Chicago, US)...	40
Şekil 3.2. Periodontitis grubundaki bir hastanın radyografik ve ağız içi görüntüsü.....	41
Şekil 3.3. Kontrol grubundaki bir hastanın radyografik ve ağız içi görüntüsü.....	41
Şekil 3.4. Thermo Scientific Nanodrop 2000 .....	43
Şekil 3.5. A: Bioer Genepro thermal cyclers, B: Biorad Chemidoc .....	44
Şekil 3.6. ABI 310 genetik analyser .....	45
Şekil 3.7. CGRP -624 (T/C) /-590 (C/G) polimorfik bölgeleri .....	46

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Periodontal hastalık ve durumlar.....	6
Tablo 2.2. Dişeti sağlığı ve plağa bağlı dişeti iltihabı için tanı kriterleri .....	7
Tablo 2.3. Periodontitis evreleri .....	9
Tablo 2.4. Periodontitis dereceleri.....	11
Tablo 4.1. Periodontitis ve Kontrol grubunda cinsiyet dağılımı .....	47
Tablo 4.2. Periodontitis ve Kontrol grubunda yaş dağılımı.....	47
Tablo 4.3. Periodontitis ve Kontrol grubunda klinik bulgular.....	48
Tablo 4.4. CGRP -624 (T/C) gen polimorfizmi, genotip ve alel frekansları.....	48
Tablo 4.5. CGRP geni -590 (C/G) gen polimorfizmi, genotip ve alel frekansları .....	49
Tablo 4.6. Klinik parametreler ve genotipler arasındaki ilişki .....	49

# 1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar, mikrobiyal dental biyofilmin primer etiyolojik faktör olarak görev aldığı, çevresel faktörler ve konak cevabının bu etiyolojik faktörle etkileşimi neticesinde gelişen ve patolojisinde de periodonsiyumda değişik düzeylerde yıkımlarla karakterize enflamatuvar hastalıklardır. Periodontitis ise bu hastalık grubu içinde doku yıkımı en ileri düzeyde görülen tipidir (Dommisch and Kerschull, 2015; Kinane et al., 2008). Periodontitis ataşman ve alveol kemiği kaybı ile birlikte, bağlantı epitelinin apikale migrasyonu ile karakterizedir. Esasen periodontal enflamatuvar süreç hastalığın yayılımını sınırlamak için aktive olmakla birlikte, bu yararlı etkisinin yanı sıra doku yıkımına da yol açar. Enflamatuvar cevap çeşitli faktörler tarafından başlatılabilir (Engebreston et al., 2003). Periodontal hastalık patogenezinde ve periodontal hastalıkların patolojisinde, özellikle enfektif bir antite olması nedeniyle, mikrobiyal dental plak temelli bir tetikleme şartken, konak yanıtının da çok değişkenli ve karmaşık bir şekilde hastalık sürecinde rol oynaması söz konusudur. Bu açıdan bakıldığında periodontitis, fenotipi etkilenen bireydeki genetik yapı ve çevresel etkenler ile şekillenen karmaşık bir epigenetik hastalık olarak da değerlendirilebilir (Hartung et al., 1986).

Son zamanlarda Periodontoloji ve Genetik ilişkisine odaklanan çalışmalar artmış, gün geçtikçe bu çalışmaların alanı daha da kapsamlı hale gelmiştir. Tarihsel olarak literatürdeki 2 önemli araştırma, periodontal hastalık-genetik ilişkisine ışık tutmuştur. Loe vd. (1986), "Periodontal Hastalıkların Doğal Gelişimi ve İlerlemesi" isimli çalışmalarında ağız hijyeni iyi olmayan ve diş tedavisi olanakları bulunmayan Srilankalı çay işçilerinde benzer plak ve diş taşı varlığına rağmen periodontal hastalığın ilerlemesinde bireysel farklılıklar gözlemlenmiştir. Bu popülasyonda yer alan bireyler hastalığın ilerlemesi ve şiddeti bakımından hastalığın ilerleme göstermediği (% 8), orta derecede ilerleme gösterdiği (% 81), ve hızlı ilerleme gösterdiği (%11) bireyler olarak üç gruba ayrılmıştır. Bu şekilde periodontal hastalıklar, bazı bireylerin daha yüksek risk taşıdığı geniş bir hastalık grubu olarak tanımlanmıştır. Yine Michalowicz vd. (1991), yaptıkları ikiz çalışmalarında periodontitisin yetişkinlerde görülen formlarında genetik faktörlerin etkisinin % 50 olduğunu bildirmişlerdir.

Genetik polimorfizm, aynı kromozom üzerindeki genlerin toplumda birbirinden kesinlikle ayrılabilen ve bir arada bulunan birden çok fenotip oluşturmalarıdır. Yani bir popülasyonda mevcut olan genetik çeşitliliğe polimorfizm denir (Rafalski, 2002). Gen seviyesinde oluşan polimorfizmler, genin kodladığı polipeptid yapısında değişiklik meydana getirmektedir. Bu değişiklikler polipeptidin görevini yerine getirememesi veya eksik getirmesine, üretilen polipeptid miktarında artış veya azalmaya yol açmaktadır (Ekmekçi, vd., 2008). Bu fenomen periodontal hastalık enflamatuvar süreci için de geçerlidir ve bu nedenle periodontitis patogenezi ve patolojisinde etkilidir (Scarel-Caminaga et al., 2002; Diehl et al., 2012). Yapılan pek çok araştırma, periodontitis sürecinde enflamatuvar ve immün yanıtta etkili olan faktörlerde görülen genetik polimorfizmlerin hastalık seyrindeki olumsuz etkilerini ortaya koymuştur. Moreira vd. (2007), Brezilyalı bir popülasyonda *IL-1A* (-889) gen polimorfizmi ile farklı periodontitis formları ve hastalık şiddeti arasındaki ilişkiyi değerlendirdiği çalışmada, bu iki durum arasında anlamlı düzeyde pozitif bir korelasyon bulmuştur. İmmünitenin temel elemanlarından olan *HLA* gen ailesine ait polimorfizmler ile periodontitise duyarlılık arasındaki ilişkiye yönelik olarak Takashiba vd. (1994), Japonlar'da (*-DQX*) geni ile periodontitis gelişimi arasında pozitif korelasyon saptamıştır. N-Formil-L-metionil-L-lösil-L-fenilalanin (fMLP), nötrofil kemotaksisinde görev alan bir bakteriyel-ürün yapısal analogudur. Gwinn vd. (1999), *fMLP reseptör* geninde iki adet tekil gen nükleotid (329 T/C ve 378 C/G) polimorfizminin periodontitis ile ilişkili olduğunu kaydetmiştir. Bağ dokusunun fizyolojik ve patolojik yıkım süreçlerinde rol oynayan matriks metalloproteinazların (MMP), özellikle *MMP-1* ve *MMP-3* ile ilişkili polimorfizmlerinin periodontitise duyarlılıkla ilişkili olduğu kaydedilmiştir (Yoshie et al., 2000).

Periodontal hastalık sürecinde savunma mekanizmasında rol alan mediatörler, enfeksiyona karşı verilen konak yanıtını kontrol ederler (Hanada and Yashimura, 2002). Birer mediatör olarak nöropeptidlerin enflamatuvar ve immün cevaptaki temel fonksiyonu vazodilatasyon, vazokonstriksiyon ve bağışıklık hücrelerinin agregasyonunun sağlanmasıdır (Kvinnslund and Heyeraas, 1992). Bu nedenle, sağlıklı ve hastalıklı periodontal dokularda nöropeptidlerin tanımlanması, periodontal hastalık veya diğer orofasiyal iltihapsal bozuklukların belirli nöropeptidlerin hem miktarında hem de yapı ve fonksiyonlarındaki düzensizlikler sonucu meydana geldiğinin daha net bir şekilde anlaşılmasına öncülük edecektir.

Kalsitonin Gen İlişkili Peptid (*CGRP*), 37 amino asit içeren ve bazı sitokinlerin regülasyonunda ve enflamatuvar süreçte rol oynayan önemli bir nöropeptiddir (Buckley, et al., 1991). *CGRP*, *CALCA* ve kalsitonin ilişkili polipeptid beta (*CALCB*) izoformlarına sahiptir (Russell et al., 2014). İnsan *CALCA* geni, kromozom 11 (11p15.2-p15.1) üzerinde lokalizedir ve bu gen, kalsitonin ve *CGRP*'yi kodlar. *CALCA* geni 1 promoter ve 6 ekson içerir. *CGRP* nöropeptidinin periodontal enflamatuvar süreçte de etkin bir rol oynayabileceği belirtilmiştir (Luthman et al., 1988). Bu nöropeptid, nötrofillerin *IL-1*'e bağlı olarak ortamda agregasyonunu artırır ve T-hücrelerinden sitokin salgılanmasının artmasına neden olur (Buckley et al., 1991; Levite, 1998). T Zhang vd. (2017) yaptıkları çalışmada, *CGRP*'nin kemiğin yeniden şekillenmesinde rol oynadığını, osteoblast üretimini artırdığını ve osteoklastların aktivitesini azalttığını öne sürmüşlerdir. Bu nedenle *CGRP*'yi, periodontitisin önlenmesi veya ilerlemesini yavaşlatacak koruyucu bir faktör olarak değerlendirmişlerdir. Lundy ve Lindeh (2004), *CGRP* düzeyinin sağlıklı periodontal dokularda fazla olmakla birlikte, hastalıklı periodontal dokularda hastalık ilerledikçe azaldığını bildirmişlerdir. Yan vd. (2016), *CGRP*'nin şiddetli periodontitiste azaldığını ve tedaviden sonra tekrar arttığını gözlemlemişlerdir. Dolayısıyla, *CGRP* bu anlamda önemli bir marker olma potansiyeline sahiptir. Çünkü, periodontal hastalıkların patogenezi ve patolojisi sürecinde meydana gelen/gelecek reaksiyonların hemen hepsinde bu nöropeptidin bir şekilde rolü olacaktır.

*CGRP*'nin diğer hastalıklarla ve farklı organlarla/dokularla (örn.: serebrovasküler hastalıklar, yumurtalık kanseri ve Parkinson hastalığı) ilişkisini araştıran genetik polimorfizm çalışmaları yapılmıştır (Alkanlı vd., 2017; Goodman et al., 2005; Bueryenich et al., 2001). Ancak günümüzde periodontal hastalıklar veya sağlıklı ve hastalıklı periodonsiyum ile ilgili bu anlamda yeterli veri bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, *CGRP* geninde oluşan genetik varyasyonların (polimorfizm) ve buna bağlı *CGRP*'nin oluşturduğu yapısal değişikliklerin ve sonuç olarak da periodontitis sürecinin nasıl etkilediğinin incelenmesi amaçlanmıştır. Evrensel olarak değerlendirildiğinde, periodontal hastalığın genetik karakteristiğinin tespit edilmesi bu hastalığın mekanizmalarının anlaşılmasında, erken teşhisinde ve oluşmadan önlenmesinde yardımcı olacak bilgiler sağlayacaktır. Ayrıca patogenezin anlaşılması yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Bu nedenle araştırmamızda, periodontal hastalığın patogenezinde rol alabilecek aday genlerden

biri olan *CGRP* genindeki polimorfizm ile hastalık ilişkisinin çalışılması hedeflenmiştir.



## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Periodonsiyum ve Periodontal Hastalık**

Periodonsiyum, dişi destekleyen yapıların tümünü ifade eden bir terim olarak dişeti, alveol kemiği, periodontal ligament ve sement olmak üzere dört farklı dokudan oluşmaktadır (Bosshart et al., 2022; Fiorellini et al., 2012). Periodontal dokuların gelişimi dişlerin gelişimi ve oluşumu sırasında gerçekleşir. Periodonsiyumun temel görevi dişleri çene kemiğine bağlamak ve çiğneme mukozasının bütünlüğünü korumaktır. Sağlıklı periodonsiyumda periodontal dokuların yapısal ve işlevsel bütünlüğü bozulmamıştır ve bu bütünlüğün devamlılığını doku yıkımı ile rejenerasyonu arasındaki denge sağlamaktadır. (Kinane, 2001; Bosshart et al., 2022).

Periodontitis, dişleri destekleyen dokuların kronik enflamatuvar bir hastalığıdır. Periodontal hastalığa duyarlı kişilerde konağın bağışıklık sistemi ile oral bakteriler arasında bir dengesizlik vardır. Bu bireylerde belirli mikrobiyal patojenler çoğalabilir ve bu da periodontal dokularda enflamatuvar reaksiyonların indüklenmesine yol açar. Bu enflamatuvar reaksiyonlar zaman içinde periodonsiyuma ciddi hasarlar verir. Tedavi edilmezse dişler alveoler kemikle olan ataşman desteğini kaybeder, alveoler kemik rezorbe olur ve bu durum diş mobilitesi ve sonucunda da diş kaybına kadar gider (Schaefer et al., 2022).

### **2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması**

Periodontal hastalık için sınıflama yapılması teşhis ve tedavi protokollerinin hazırlanmasında önem arz etmekle birlikte hastalık etiyoloji, patogenezi, patolojisi ve tedavi yöntemleri ile ilgili yeni araştırmaların projeksiyonuna da olanak sağlar. Periodontal hastalık sınıflaması 2017 yılında “Periodontal ve Peri-implant Hastalıklar ve Durumların Sınıflaması” adı altında tekrar güncellenmiştir. Bu sınıflamada sağlıklı ve hastalıklı periodonsiyum; periodontal sağlık, gingival hastalıklar ve durumlar, periodontitis ve periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar olmak üzere üç ana başlık altında incelenmiştir (Tablo 1.1) (Papapanou et al., 2018b).

Tablo 2.1. Periodontal hastalık ve durumlar

Periodontal ve Peri-implant Hastalıkların Sınıflandırılması			
Periodontal Hastalıklar ve Durumlar			
Periodontal sağlık, gingival hastalıklar ve durumlar	Periodontitis	Periodonsiyumu etkileyen diğer durumlar	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Periodontal sağlık ve dişeti sağlığı</li> <li>• Dental biyofilmle ilişkili gingivitis</li> <li>• Dental biyofilmle ilişkili olmayan dişeti hastalıkları</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nekrotizan periodontal hastalıklar</li> <li>• Periodontitis</li> <li>• Sistemik hastalığın bir belirtisi olarak periodontitis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Periodontal destek dokuları etkileyen sistemik hastalıklar veya durumlar</li> <li>• Periodontal apseler ve endodontik periodontal lezyonlar</li> <li>• Mukogingival deformiteler ve durumlar</li> <li>• Travmatik okluzal kuvvetler</li> <li>• Diş ve protezden kaynaklı faktörler</li> </ul>	
Peri-implant Hastalıklar ve Durumlar			
Peri-implant sağlık	Peri-implant mukozitis	Peri-implantitis	Peri-implant yumuşak ve sert doku defektleri

### 2.2.1. Periodontal Sağlık

Periodontal sağlık klinik olarak saptanabilir enflamasyonun olmaması ile tanımlanır. Klinik dişeti sağlığı, sağlam bir periodonsiyum ya da tedavisi bitmiş bir gingivitis ve periodontitis hastasında gözlemlenebilir (Tablo 2.2) (Chapple et al., 2018). Dişeti sağlığı ve homeostazı ile uyumlu biyolojik bir bağışıklık seviyesi vardır. Sağlam bir periodonsiyumda klinik dişeti sağlığı sondalamada kanama, eritem, ödem semptomlarının ve ataşman ve kemik kaybının olmamasıyla karakterizedir. Radyografik bulgular, periodonsiyumun klinik olarak değerlendirmesinde önemli bir etken olarak belirtilmektedir. Periodontal sağlığın radyografik bulguları furkasyon bölgelerinde kemik kaybının olmaması, devamlılığı bozulmamış lamina dura, vertikal kemik defektlerinin olmaması ve alveoler kemik kretinin en koronal kısmı ile mine sement sınırı arasında 1.0-3.0 mm mesafe olması şeklinde tanımlanmaktadır (Chapple et al., 2018).

Tablo 2.2. Dişeti sağlığı ve plağa bağlı dişeti iltihabı için tanı kriterleri

	Sağlıklı Periodonsiyum		Azalmış bir periodonsiyum periodontitisi olmayan hasta		Stabil bir periodontitis	
	Sağlık	Gingivitis	Sağlık	Gingivitis	Sağlık	Gingivitis
Ataşman kaybı	Yok	Yok	Evet	Evet	Evet	Evet
Cep derinliği	≤3 mm	≤3 mm	≤3 mm	≤3 mm	≤4 mm	≤3 mm
Sondalamada kanama	Minimal ≤ %10	Evet ≥ %10	Minimal ≤ %10	Evet ≥ %10	Minimal ≤ %10	Evet ≥ %10
Radyolojik kemik kaybı	Yok	Yok	Olabilir	Olabilir	Evet	Evet

### 2.2.2. Gingivitis

Dişeti hastalıkları (gingivitis) iki geniş kategoriden oluşmaktadır; dental plak kaynaklı dişeti hastalıkları ve dental plağa bağlı olmayan dişeti hastalıkları. Dental plağa bağlı olmayan dişeti hastalıkları, plaktan kaynaklanmayan ve genellikle plak uzaklaştırdıktan sonra iyileşmeyen çeşitli durumları içerir. Bu tür lezyonlar, sistemik bir durumun belirtileri olabilir veya ağız boşluğunda lokalize olabilir. Dental plak kaynaklı dişeti hastalıklarının çeşitli klinik belirti ve semptomları vardır ve hem lokal predispozan faktörler hem de sistemik modifiye edici faktörler yaygınlığını, şiddetini ve ilerlemesini etkileyebilir (Chapple et al., 2018).

### 2.2.3. Periodontitis

Periodontitis, disbiyotik plakla ilişkili ve periodontal dokuların yıkımı ile karakterize olan multifaktöriyel enflamatuvar bir hastalıktır. Primer özellikleri klinik ataşman kaybı ve radyografik olarak alveolar kemik kaybı, periodontal cep ve dişetinde kanama varlığı şeklinde ortaya çıkan bir hastalıktır (Papapanou et al., 2018b). Dünya Periodontoloji Çalıştay'ının 2017'de hazırladığı bildiriye göre periodontitis; komşu olmayan 2 veya daha fazla dişte interdental ataşman kaybı, 2 ya da daha fazla dişte 3 mm'den fazla periodontal cep oluşması ile birlikte bukkal/lingual ataşman kaybının 3 mm veya daha fazla olması olarak tanımlanmaktadır (Tonetti et al., 2018b).

Daha önce “kronik” veya “agresif” olarak kabul edilen periodontitisin, artık tek bir kategori olarak, “periodontitis” adı altında gruplandırıldığı ve çok boyutlu bir evreleme ve derecelendirmeye dayalı olarak ayrıca karakterize edildiği yeni bir periodontitis sınıflama şeması kabul edilmiştir (Tonetti et al., 2018a). Evreleme büyük

ölçüde hastalığın durumu ve karmaşıklığına bağlıdır. Derecelendirme ise periodontitis ilerleme hızının geçmişe dayalı bir analizi dahil olmak üzere hastalığın biyolojik özellikleri hakkında ek bilgi sağlar. Bunun yanı sıra hastalığın ilerleme riskini, tedavinin olası kötü sonuçlarının analizini ve hastalığın genel sağlığı olumsuz yönde etkileme riskini değerlendirir (Papapanou et al., 2018b). Karakteristik klinik fenotip özellikleri (papill nekrozu, kanama ve ağrı) içeren ve konakçı immün yanıt bozuklukları ile ilişkili nekrotizan periodontal hastalıklar, ayrı bir periodontitis kategorisinde incelenmektedir. Son olarak sistemik hastalığın bir belirtisi olarak periodontitis, sınıflandırmanın üçüncü bölümünü oluşturmaktadır (Papapanou et al., 2018b). Evreleme 4 kategoriye (evre I, II, III ve IV), ayrılmaktadır (Tablo 2.3).

#### **2.2.3.1. Evre I Periodontitis**

Evre I periodontitis, gingivitis ve periodontitis arasındaki sınır olarak bilinmektedir ve ataşman kaybının erken aşamalarını temsil eder. Bu nedenle, evre I periodontitisli hastalarda dişeti iltihabı ve biyofilm kalıcılığına yanıt olarak periodontitis gelişmiştir. Bu durum erken tanı için önemlidir. Bu bireylerin erken yaşta hastalık başlangıcına karşı duyarlılığı artmış olabilir. Duyarlı bireylerden oluşan bir popülasyonun erken teşhisi tanı ve erken müdahale için olanak sağlar, çünkü başlangıç lezyonlar hem konvansiyonel mekanik biyofilm uzaklaştırılması hem de farmakolojik ajanlar ile önlenebilen bir durumdur. Erken teşhisin Diş Hekimliği pratiğinde zorlu bir süreç olduğu kabul edilmektedir ve erken klinik ataşman kaybını tahmin etmek için sadece periodontal sondalama periodontitisin tanımlanması için yeterli olmayabilir. Tükürük biyobelirteçleri veya yeni görüntüleme teknolojileri ile yapılan değerlendirme, çeşitli ortamlarda evre I periodontitisin erken teşhis edilmesine olanak sağlar (Tonetti et al., 2018b).

#### **2.2.3.2. Evre II Periodontitis**

Evre II periodontitiste, kapsamlı bir klinik periodontal muayene sonucunda periodonsiyumda karakteristik hasarları temsil eden yerleşik periodontitis teşhisi yapılabilir. Bununla birlikte, hastalık sürecinin bu aşamasında düzenli kişisel bakım, profesyonel tedavi ve idameyi içeren standart tedavi ilkelerinin uygulanması hastalığın ilerlemesini durdurmak için en etkili yöntemler olduğu bilinmektedir. Evre II hastanın standart tedaviye yanıtının dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi önemlidir, bu aşamada tedavi yanıtı belirli hastalar için daha kapsamlı tedavi işlemlerine yönlendirmeyi gerektirebilir (Tonetti et al., 2018b).

### 2.2.3.3. Evre III Periodontitis

Bu evre de, periodontal ataşman hasara uğramıştır ve ileri tedavi yöntemleri uygulanmadığı takdirde diş kayıpları meydana gelebilir. Kökün orta kısmına kadar uzanan derin periodontal lezyonların varlığı ile karakterizedir ve derin kemik içi defektlerin varlığı, furkasyon tutulumu ve periodontal diş kaybı öyküsü ile ortaya çıkmaktadır. Bu vakalarda implant tedavisi oldukça zordur. Diş kaybı olasılığına rağmen çiğneme fonksiyonu korunur ve periodontitis tedavisi karmaşık fonksiyon rehabilitasyonu gerektirmez (Tonetti et al., 2018b).

Tablo 2.3. Periodontitis evreleri (Papapanou et al., 2018b)

Periodontitis Evreleri	Evre I	Evre II	Evre III	Evre IV
İnterdental Bölgede Klinik Ataşman Kaybı	1-2 mm	3-4mm	≥5 mm	≥5 mm
Şiddeti	Radyografik Kemik Kaybı	Koronal 1/3 <% 15	Koronal 1/3 %15-%33	Kök yüzeyinin orta/apikal 1/3'üne uzanan
Diş Kaybı	Periodontal nedenlere bağlı diş kaybı yok	Periodontal kaynaklı diş kaybı ≤4	Periodontal kaynaklı diş kaybı ≥5	Evre III'e ek olarak: İleri rehabilitasyon gereken durumlar; Çiğneme fonksiyonunda bozukluk
Kompleksite	Lokal	Maksimum sondlama derinliği ≤4 mm Genellikle horizontal kemik kaybı	Maksimum sondlama derinliği ≤5 mm Genellikle horizontal kemik kaybı	Sekonder okluzal travma (diş mobilite derecesi) ≥2 Şiddetli kret defekti Kapanış bozukluğu Dişlerde migrasyon <20 diş
Kapsam ve Dağılım	Tanımlayıcı Alan	Her bir evre için dağılımın lokalize (<%30), generalize veya molar/insizal bölgede olduğu belirtilir		

#### **2.2.3.4. Evre IV Periodontitis**

En ileri periodontitis evresi olup periodontal dokular ciddi ölçüde hasar görmüştür ve diş kayıplarına neden olabilir, bu da çiğneme fonksiyonunun kaybı anlamına gelir. Düzenli kontrollerin yapılmadığı ve yeterli rehabilitasyonun olmadığı durumlarda dişlerin kaybolma riski vardır. Bu aşama, kökün apikal kısmına kadar uzanan derin periodontal lezyonların varlığı veya çoklu diş kaybı öyküsü ile karakterizedir ve sekonder oklüzal travmaya bağlı diş mobilitesi ile komplike hale gelir. Bu durumda çiğneme fonksiyonunun stabilizasyonunu gereklidir (Tonetti et al., 2018b).

#### **2.2.3.5. Periodontitis Dereceleri**

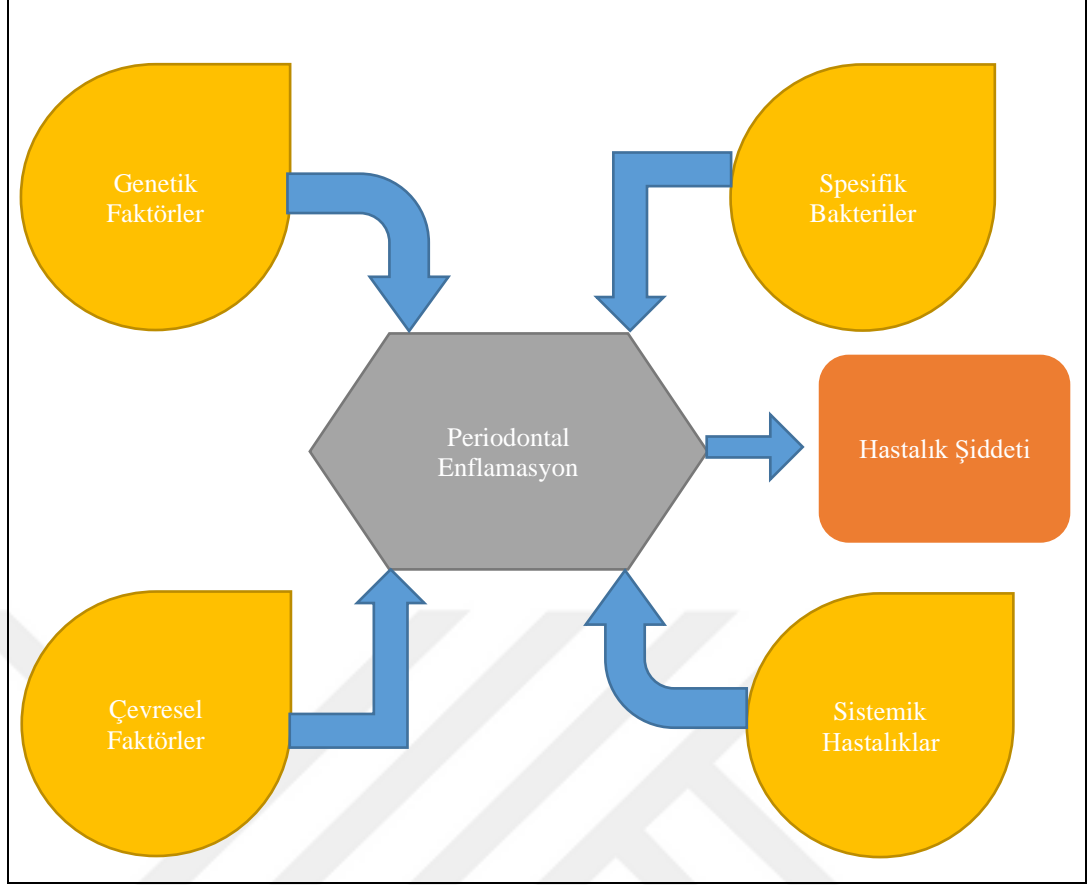
Tanıdaki evreden bağımsız olarak periodontitis bireylerde farklı oranlarda ilerleyebilir, bazı hastalarda tedaviye beklenenden daha az yanıt verebilir ve bireyin genel sağlığı veya sistemik hastalığı bu durumu etkileyebilir. Geçmişte periodontitisin derecesi, hızlı ilerleme veya erken yaşta daha şiddetli yıkım ile ortaya çıkan belirli periodontitis formları tanımlanarak sınıflandırma sistemine dahil edilmiştir (Tonetti, 1999). Bu durum tanı aşamasında önemli bir sınırlamaya neden olmuş ve hastalığın ilerlemesinde etkili olan faktörlerden ziyade, formun tanımlanmasına odaklanılmıştır. Bu nedenden dolayı periodontitisin ilerleme sürecinde ek olarak genel sağlık durumu, sigara kullanımı ve diyabette metabolik değerlendirme gibi diğer etkenleri de kapsamayı gerektirmektedir. Obezite, spesifik genetik faktörler, fiziksel aktivite, yaş ve beslenme gibi risk faktörleri değerlendirmeye katkıda bulunabilir ve bu faktörlerin ileride hastalığın ilerlemesine etken olarak sınıflamaya dahil edilmesi öngörülmektedir. Periodontitis dereceleri üç seviyeden oluşmaktadır (derece A- hastalık ilerlemesi için düşük risk, derece B -orta risk, derece C-yüksek risk)(tablo 2.4) (Papapanou et al., 2018b).

Tablo 2.4. Periodontitis dereceleri (Papapanou et al., 2018b)

Periodontitis Derecesi			Derece A	Derece B	Derece C
Primer Kriterle	İlerlemenin Doğrudan Kanıtları	Uzun Dönem Veriler (radyografik kemik kaybı veya KAK)	>5 yıl kayıp bulgusu yok	>5 yıl <2 mm	>5 yıl $\geq 2$ mm
	İlerlemenin Dolaylı Kanıtları	% Kemik kaybı/ Yaş	<0.25	0.25-1.0	>1.0
	Vaka Fenotipi	Biyofilm miktarına göre dokularda düşük yıkım	Biyofilm miktarıyla dokulardaki yıkım orantılı	Biyofilm miktarına göre dokularda yıkım fazla	
Derece Belirleyicisi	Risk Faktörleri	Sigara	Sigara kullanmayan	Sigara <10/gün	Sigara $\geq 10$ /gün
		Diabet	yok	HbA1c <%7 diabetli hasta	HbA1c $\geq$ %7 diabetli hasta
Periodontitisin Sistemik Etki Riski	Enflamasyon Yükü	hsCRP	<1 mg/L	1-3 mg/L	> 3 mg/L

### 2.3. Periodontitis Patogenezi

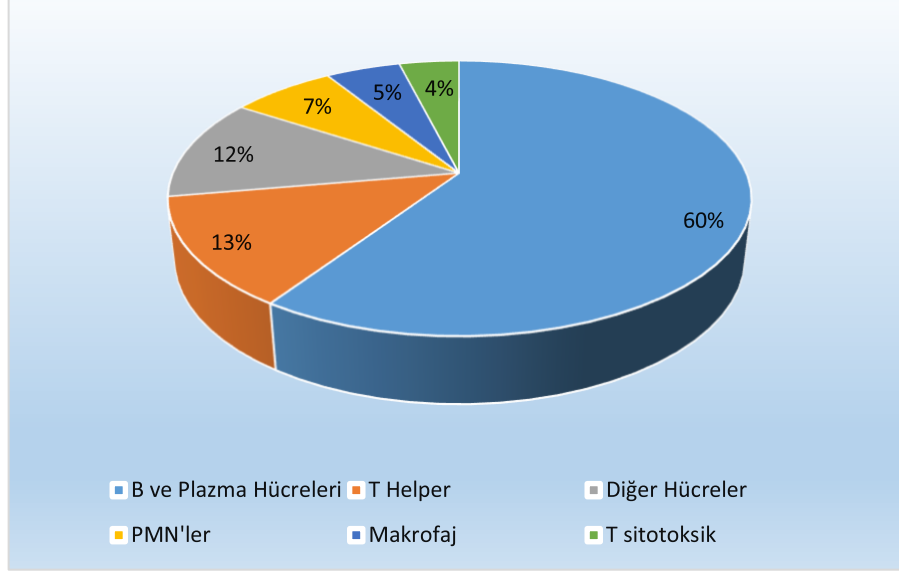
Her hastalıkta olduğu gibi periodontal hastalıkların da tedavi planlaması, hastalığın etiyolojisi ve patogenezinin kapsamlı bir şekilde incelenmesine dayanmaktadır. Dental plaktaki bakterilerin gingivitis ve periodontitisteki etkisi yanında, hastalık seyri ve sonraki ilerlemeyi belirleyen faktör, bakterilerden ziyade konakta oluşan immün yanıttır (Seymour, 1991; Socransky and Haffajee, 2005). Son 30 yıldan beri periodontitisin, konakçının savunmasının *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* ve *Treponema denticola* gibi kompleksler içeren biyofilmlerle etkileşiminden kaynaklandığı kabul edilmiştir (Socransky et al., 1998). İnsan vücudu hastalık progresyonu göstermeden mikroorganizmalarla stabil bir denge içindedir, ancak bu denge bozulduğunda hastalık ortaya çıkar. Sistemik ve çevresel etkenlerin oluşturduğu bu dengesizlik, fırsatçı mikroorganizma sayısında artışa veya konağın savunma mekanizmasının çökmesine neden olabilir (Şekil 2.1) (Bartold and Van Dyke, 2019).



Şekil 2.1. Periodontal enflamasyonun oluşumu (Kornman, 2001'den uyarlanmıştır)

### 2.3.1. Periodontitis Histopatolojisi

Brandtzaeg ve Kraus (1965), periodontitisli hastaların dişeti dokularında immüoglobulin üreten plazma hücrelerinin varlığını göstermiştir. Bu, adaptif immün mekanizmaların periodontal inflamasyonun patojenezinde rol oynadığına dair ilk kanıttır. Ancak Ivanyi ve Lehner (1970), periferik kan lenfosit transformasyon deneylerini kullanarak hücre aracılı bağışıklığın rolünü ortaya koymuştur. Periodontitis sürecinin ağırlıklı olarak B hücrelerini ve plazma hücrelerini içerdiği bilinmektedir (Berglundh et al., 2011; Mackler et al., 1977; Seymour et al., 1978; Seymour and Greenspan, 1979). Lenfositlerin çoğunluğu immüoglobulin taşıyan B hücrelerin'den oluşmaktadır ve %30'a kadarı T hücreleri içermektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Periodontitis lezyonlarında hücre dağılımı (Berglundh et al., 2011)

Bazen diş eti lezyonlarında görülen B hücreleri ve plazma hücrelerindeki artış, stabil bir gingivitis temsil etmekle birlikte ilerleyici bir periodontitis başlangıcı habercisi de olabilir, ancak bunu ayırt etmek mümkün değildir. T hücreleri bu süreçte nispeten stabil kalırken, B/plazma hücreleri ilerleyip periodontal cep gelişimine yol açarlar. Bağ dokusunun yapısında oluşan deformasyonlar, diş ataşmanı engeller ve bunun sonucunda birleşim epiteli apikal yönde göç ederek periodontal cebi oluşturur (Seymour et al., 2022). PMNL'ler periodontal cebe göç etmeye devam eder, cep epitelinde artan geçirgenlik ve ülserasyon mikrobiyal ürünlerin daha fazla girişine izin vererek IL-1, TNF- $\alpha$  ve PGE2 gibi enflamatuvar sitokinlerin sürekli üretilmesine yol açar (Gemmell et al., 2007). Böylece bağ dokusu ve kemik yıkımıyla sonuçlanan enflamatuvar sürecin devam etmesine neden olur (Reynolds and Meikle, 1997). Enflamatuvar bölgeyi çevreleyen fibröz bir doku bandı vardır. Bu durum tüm kronik enflamatuvar lezyonlar için ortaktır ve lezyonu çevre dokulardan ayırmaktadır. Periodontitiste cep derinliğinden bağımsız olarak, alttaki alveoler kemik ve periodontal ligamentte iltihabi durum gözükmemektedir. Lezyon ilerledikçe klinik ve histolojik olarak belirgin hale gelen ataşman kaybı devam eder. Doku yıkımının bağışıklık sisteminin oluşturduğu yanıtla gerçekleştiği kabul edilmektedir (Birkedal and Hansen, 1993) ve bakterilerin doğrudan oluşturduğu bir sonuç değildir. Makrofajlar ileri lezyonun baskın bir özelliği değildir (hücrelerin %5'inden daha az). Bununla birlikte fibroblastlar IL-1, IL-6, TNF-a ve PGE2 gibi enflamatuvar sitokinler tarafından uyarıldığında birincil amacı hücre dışı matrisin bozulmasına neden olan proteinaz ailesi enzimleri matriks metalloproteinazlarını üretir. Kollajen molekülleri,

daha sonra hücre dışı ortamda denatüre olur veya fibroblastlar tarafından fagosite edilip daha küçük parçalara bölünür. Lezyon ilerledikçe alveolar kemik kaybı belirginleşir. Bununla birlikte, infiltrat olmayan fibröz bant krestal kemiğe bitişik kalır ve ilerleyen lezyonu kapsül halinde sararak onu çevre dokulardan ayırır. Altta kalan alveol kemiği ve periodontal dokuların iltihaplanmadığı tekrar belirtilmelidir (Seymour et al., 2022).

### 2.3.2. Periodontitis Sürecinde B Hücreleri

Periodontitis süreci çok sayıda B hücresi ve plazma hücresi ile karakterizedir. B hücreleri, spesifik antijenler veya poliklonal aktivatörler tarafından aktive edilebilir ve belli bir seviyeye kadar antijene özgün indüksiyonla da oluşabilmektedir. Periodontal dokularda üretilen başlıca immünoglobulin sınıfı IgG'dir, bunu IgM ve bir miktar IgA takip eder (Seymour et al., 2022).

Kronik periodontitisin patogenezinde spesifik antikorların rolü tam olarak anlaşılammıştır. *P. gingivalis* ve *A. actinomycetemcomitans*'a karşı spesifik antikorların periodontal hastalığı olan bireylerin serum ve dişeti oluğu sıvısında yüksek seviyede tespit edilmiştir. Bununla birlikte, hastalık aktivitesi ile ilgili mevcut raporlar hala çelişkilidir (Baranowska et al., 1989; Ebersole et al., 1995; Nakagawa et al., 1994). Yüksek aviditeye (antikor ve kompleks bir antijen arasındaki bağlanma kuvveti) sahip antikorlar sürekli veya tekrarlanan enfeksiyona direnç göstermektedir, ancak koruyuculuğu olmayan düşük aviditeli antikorlar, immün yanıtta etkili bir şekilde aracılık edemeyebilir (Lopatin and Blackburn, 1992; Kinane et al., 2008).

Güçlü bir antikor yanıtının genel olarak koruyucu olduğu, bakteriyel atılımı kolaylaştırdığı ve hastalığın ilerlemesini durdurduğu öne sürülmüştür (Offenbacher, 1996; Kinane et al., 2008). Antikorların moleküler boyutları nedeniyle biyofilme nüfuz etmesi olası değildir ve bu nedenle subgingival enfeksiyonu elimine etme yetenekleri sorgulanabilir. Aynı şekilde, PMNL'ler biyofilme nüfuz edemez ve böylece enfeksiyonu temizleme yeteneklerini sınırlanır. Bununla birlikte, *P. gingivalis*'i opsonize etmek için artan serum kapasitesinin, daha önceden yıkıcı periodontal hastalığı olan hastalarda ayırt edici bir özellik olduğu gösterilmiştir (Wilton et al., 1993). Yüksek düzeyde opsonize edici antikorun bulunması, subgingival enfeksiyonu elimine etme yeteneğinden ziyade geçmişteki bakteriyemiler ve serumu temizleme yeteneği ile ilişkili olabilir. Devam eden B hücresi aktivasyonu immünoglobulin / antikor üretmenin yanı sıra, doku yıkımına katkıda bulunan IL-1 ve IL-10 dahil yüksek

seviyelerde sitokin üretiminde de rol oynar. Bununla birlikte *P. Gingivalis*'in, T hücrelerinde IL-1 $\beta$  genini baskımlarken periodontitis hastalarından IL-1 $\beta$  üretmek için periferik kan B hücrelerini indüklediği gösterilmiştir (Gemmell and Seymour, 1998). Makrofajlar, ilerlemiş lezyonun baskın bir parçası olmadığından ilerlemiş periodontitiste IL-1'in ana kaynağı B hücreleri olabilir (Chapple et al., 1998).

### **2.3.3. Periodontitiste Makrofajlar (M1 ve M2)**

Aktive makrofajların en az iki farklı fenotipinin tanımlanmasıyla belli dereceye kadar esneklik gösterdiği kabul edilmektedir. Klasik veya M1 makrofajın, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi pro-enflamatuvar sitokinleri üretirken, M2 makrofajın enflamasyonun ortadan kaldırılmasında rol oynadığı bildirilmektedir. Bu makrofajlar yüksek miktarlarda IL-10 ve düşük seviyelerde IL-6 da üretir (Das et al., 2015). Yakın tarihli bir çalışmada Garaicoa-Pazmino vd. (2019), hem gingivitiste hem de periodontitiste M1 ve M2 makrofajlarının polarizasyonunu araştırmışlardır. Bu çalışma periodontitis lezyonlarında düşük seviyelerde makrofaj olduğunu doğrulamış, ancak gingivitis lezyonlarında makrofaj sayısı çok daha yüksek olmasına rağmen, iki lezyon arasında M1 ve M2 oranlarında önemli bir fark olmadığını göstermiştir.

### **2.3.4. Dişeti İltihabının Periodontitise Dönüşmesi**

Periodontolojideki en temel fenomenlerden biri de periodontitisin neden bazı insanlarda gelişirken bazılarında gelişmemesidir. Yapılan bir klinik ve radyolojik çalışmada Thorbert-Mros vd. (2017), 30-45 yaşları arasında ilerlemiş hastalığı olan bireylerin, 22-28 yaşları arasında radyolojik olarak saptanabilir kemik kaybı olduğunu göstermiştir. Daha önce tartışıldığı gibi, gingival sulkustaki epitel bariyeri ve antimikrobiyal peptitler ile birlikte oluşan güçlü bir doğal immün yanıt, homeostatik dişeti lezyonunun korunmasında esastır ve bu mekanizmalardaki herhangi bir kusur veya eksiklik muhtemelen periodontitis gelişimine yol açacaktır (Seymour et al., 2022).

#### **2.3.4.1. Th1 ve Th2 Seviyeleri**

Periodontitis gelişimi, ağırlıklı olarak T hücresi/makrofaj içeren lezyondan çok sayıda B hücresi ve plazma hücrelerini içeren bir lezyona geçişinden ibarettir (Brecx et al., 1988; Seymour et al., 1988). Th2 hücreleri ve dişeti iltihabının periodontitise dönüşümü, Th1'den Th2'ye geçişle gerçekleşmektedir (Seymour et al. 1993). Bu konseptte, güçlü bağışıklık cevabında hem PMNL'ler hem de makrofajlar tarafından

yüksek seviyelerde IL-12 üretimine yol açtığı ve bunun bir Th1 tepkisine, hücre aracılı bağışıklığa, koruyucu antikora ve stabil periodontal lezyon neden olduğu bilinmektedir (Seymour et al., 2022). Bunun aksine, poliklonal B hücresi aktivasyonu sonucu zayıf bir bağışıklık tepkisi Th2 aktivasyonuna, koruyucu olmayan antikora ve ilerleyici bir periodontal lezyona yol açar. Bununla birlikte, periodontitisin Th1 ve Th2 hücrelerinin bir Th2 profiline doğru yön değiştirdiği genel olarak kabul edilmektedir (Berglundh and Donati, 2005; Kinane and Bartold, 2007).

#### **2.3.4.2. Hücre Aracılı Bağışıklığın Baskılanması**

İlerlemiş periodontitis vakalarında hücre aracılı bağışıklığın olası baskılanmasını bildiren ilk çalışma Ivanyi ve Lehner (1970), tarafından yapılmıştır. Daha sonra bir dizi çalışma *P. gingivalis*, *A. actinomyetemcomitans*, *T. denticola*, *Capnocytophaga ochracea* ve *F. nucleatum* dahil olmak üzere periodontopatik bakterilerin *in vitro* olarak lenfosit baskılanmasını indükleyebileceğini göstermiştir. Yine, periodontitis lezyonlarından ekstrakte edilen T hücreleri sadece otolog mikst lenfosit reaksiyonunda yanıt verme kabiliyetini azaltmakla kalmaz, aynı zamanda IL-2 de üretmez ve bu durum periodontitiste hücre aracılı yanıtların baskılanmasına neden olabilir (Seymour et al., 1985).

#### **2.3.4.3. T hücreleri ve Homeostaz**

T hücreleri, hemen tüm immün düzenleyici etkileşimlerde yer alır ve immün homeostaz için efektör ve düzenleyici alt kümeleri arasında hassas bir denge gereklidir. Th1 hücreleri sadece gecikmiş tip aşırı duyarlılığa aracılık etmekle kalmaz, aynı zamanda makrofajların hücre içi ve hücre dışı patojenleri öldürme yeteneğini de artırır (Romagnani, 1992). Ayrıca, enfeksiyon bölgesine PMNL'lerin göçü ve aktivasyonunda T hücrelerinin rol oynadığına dair kanıtlar vardır (Campbell, 1990). Stabil lezyonda, PMNL'lerin aktif olması enfeksiyonu kontrol altında tutmada önemli olabileceğini düşündürmektedir. Dişeti dokularında, doğuştan gelen bağışıklık tepkisi ve IL-12 üretimi bir Th1 tepkisinin oluşturulmasında kritik öneme sahip olabilir. Dişeti dokularında doğal öldürücü hücrelerin varlığı da gösterilmiştir (Wynne et al., 1986) ve bunların bir Th1 yanıtının oluşturulmasında da rolü olabileceği tahmin edilmektedir. IFN- $\gamma$  üretimi, hem PMNL'lerin hem de makrofajların fagositik aktivitesini ve dolayısıyla enfeksiyondan korumayı artırır.

### 2.3.5. Nöropeptidler

Enflamasyon, vasküler dokuların iritasyona veya yaralanmaya tepkisini temsil eder. Genellikle koruyucudur, ancak neden olan ajan devam ederse ilişkili dokunun hasarı ile kronikleşebilir. Plak mikroorganizmalarına, özellikle lipopolisakkarit bileşenlerine verilen enflamatuvar yanıtların büyüklüğü, gingivitis ve periodontitisin kapsamını ve süresini belirlemede önemlidir. Son yıllarda sinir sistemi, enflamasyonun kritik bir düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (Tracy, 2002). Tüm sinir hücreleri veya nöronların temel görevleri hemen hemen aynıdır. Her nöron, kimyasal veya mekanik bir uyarıya yanıt olarak bir elektriksel dalga üretir ve bunu hücre yapısı aracılığıyla ileterek terminalinde elektriksel aktiviteyi kimyasal bir sinyale dönüştürür. Nörotransmitter olarak adlandırılan aktif kimyasal nöronal devrede bir sonraki nöronun zarına sinaps bölgesinden geçer (Lundy and Linden, 2004).

Nöropeptidler basit peptit nörotransmitterleridir. Bir peptidin nöropeptid olarak tanımlanması için, nöronlardan sentezlenip salınması ve hedef hücrelere hücre dışı reseptörler aracılığıyla bağlanması gerekmektedir (Hoyle, 1995). Nöropeptidler, şu anda bilinen en büyük transmitter madde sınıfını temsil eder ve çeşitli işlevlere aracılık eder.

Son zamanlarda, sinir sistemi periodontal hastalıklarda önemli bir iltahap düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (Tracy, 2002). Ayrıca patolojik koşullar altında bazı nöropeptidler iltahaplı hücrelerden salınır ve sentezlenir (Metwali et al., 1994). Bu nedenle, bağışıklık hücreleri üzerinde nöropeptid reseptörlerinin tanımlanması immün ve nörolojik sistemler arasında iltahapsal yanıtın düzenlenmesi ile sonuçlanabilecek bir iletişimin var olduğunu ortaya koymaktadır (Hartung et al., 1986; McGillis et al., 1991). Nöropeptidler hücre membranı üzerinde yer alan G protein-eşli reseptörler yoluyla nöron olmayan hücreleri işaret etmektedir (Lundy and Linden, 2004; Yiangou et al., 2001). Hokfelt vd. (2000), memeli nöropeptidlerini sınıflandırmıştır, buna göre 40'a yakın nöropeptid bulunmaktadır.

Periodontal hastalık sürecinde üç ana nöropeptidin modülatör etkisi saptanmıştır;

- **P maddesi (SP) ve Takikinler:** Von Euler ve Gaddum (1931) tarafından toz halinde ekstrakte edilen vazoaaktif materyal, "P maddesi" olarak adlandırılmıştır. SP'nin, tüm memeli türlerinde aynı olduğun düşünülmektedir.

Onbir amino asitli bir peptid olan SP, nörokininler olarak da bilinen takikinin nöropeptid ailesinin bir üyesidir. SP ve nörokinin A, ortak bir transkripsiyon ürününün sonucu olarak *preprotakikinin A* geninden türer (Nawa et al., 1984). *Preprotakikin A* geninin sitokinler, glukokortikoidler, nöropeptidler ve lipopolisakkaritler tarafından indüklendiği gösterilmiştir (Rameshwar, 1997).

- **Kalsitonin Gen İlişkili Peptid (CGRP):** CGRP ilk olarak Amara vd. (1982) tarafından keşfedilmiştir ve kalsitonin geninin CGRP adını verdikleri bir peptidinin alternatif mRNA'larından üretildiği ortaya çıkmıştır. Farklı memeli türleri arasında dizi homolojisinde küçük farklılıkları olan 37 amino asitli bir peptiddir. Merkezi ve periferik sinir sistemleri boyunca yaygın olarak dağıtılır ve özellikle duyu sinirlerinde yüksek seviyelerde bulunur. CGRP, güçlü vazodilatör aktiviteye sahiptir (Brain et al., 1985) ve sıklıkla SP ile birlikte lokalizedir. SP'nin, CGRP'nin vazodilatör aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir (Brain and Williams, 1988).
- **Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP):** VIP, domuz bağırsak ekstraktlarından izole edilen (Said and Mutt, 1970) ve daha sonra merkezi ve periferik sinir sistemlerinde yeniden keşfedilen, 28 amino asitli bir peptiddir. VIP'in düz kas hücrelerinde gevşeme ve tükürük salgısı dahil olmak üzere geniş bir fizyolojik etki profiline sahip olduğu bilinmektedir.

Son on yılda VIP, hem proenflamatuvar hem de anti-enflamatuvar mediatörlerin üretimini düzenleyebilen önemli bir immünomodülatör peptid (Bellinger et al., 1996) olarak tanımlanmıştır (Ganea and Delgado, 2002; Pozo et al., 2000).

### 2.3.5.1. Sitokinler ve Sinyal Süpresörleri

Sitokin-nöropeptid etkileşimleri çift yönlüdür; sitokinler ve bağışıklık hücrelerinin diğer ürünleri nöron hücrelerinin eylemini, farklılaşmasını ve hayatta kalmasını düzenleyebilirken nöronlardan salınan nöropeptidler bağışıklık tepkisini etkilemede farklı roller oynar. Örneğin sitokinlerin nöropeptid ekspresyonunun özellikle sempatik nöronlarda SP ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (Kessler et al., 1993). Nöropeptidler sadece sitokin hareketlerini arttırmakla kalmaz (örn.: CGRP, IL-1 ile indüklenen nötrofil birikimini artırır (Buckley et al., 1991)), aynı zamanda T hücresi sitokin salgılanmasını da indükleyebilir (Levite, 1998). LPS, sitokin üretiminin indüklenmesi yoluyla enflamatuvar yanıtın aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir.

Bununla birlikte, Toll-benzeri reseptörlerin (TLR'ler) tanımlanmadan önce, spesifik reseptörlerin bu yanıtla bağlantılı olduğu söylenememiştir. TLR'ler farklı mikrobiyal özellikleri tanır ve LPS genellikle TLR4'ü aktive etse de *P. gingivalis*'ten gelen LPS'nin TLR2'yi de aktive edebileceğini gösteren bazı kanıtlar vardır (Medzhitov, 2001).

Mikrobiyal istilanın önleyicisi olarak adlandırılan TLR'ler, konak-mikrop etkileşim bölgelerinde bulunur. TLR'lerden gelen sinyal yolları mitojenle aktive olan protein kinazın aktivasyonunu gerçekleştirir ve sitokin üreten genlerin aktivitesini düzenleyen transkripsiyon nükleer faktör kapp B'nin translokasyonu ile sonuçlanır (Baldwin, 2001). Bu nedenle, TLR'ler aracılığıyla hareket eden LPS, nöropeptidleri doğrudan etkileyebilen nöromodülatörler olan proenflamatuvar sitokinlerin üretimini uyarak nörojenik enflamasyon üzerinde dolaylı bir etkiye olur. TLR'ler aracılığıyla LPS sinyali, sitokin üretimi için çok önemli bir mekanizma olarak tanımlanmıştır, bununla birlikte bu tür sinyal iletim yollarının inaktivasyonu hakkında bilgiler sınırlıdır. Son zamanlarda, sitokin sinyalleşmesinin baskılayıcıları (SOCS) olarak bilinen bir protein ailesi, sitokinlerin inhibitörü olarak tanımlanmıştır (Auernhammer and Melmed, 2001). LPS'nin SOCS-1 ve SOCS-3 ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir ve bu ekspresyonun doğuştan gelen immün yanıtın bir parçası olarak TLR sinyal yollarının tetiklenmesinden sonra indüklenebileceği varsayılmaktadır (Dalpke et al., 2001).

### **2.3.5.2. Nöropeptidlerin Etkileri**

Duyusal nöropeptidlerin vazodilatasyon, plazma ekstrasvazasyonu ve immün hücrelerin toplanması dahil olmak üzere nörojenik enflamasyonda önemli roller oynar, bununla birlikte immün hücre aktivitesinin düzenlenmesi nöropeptidler için daha kapsamlı bir fonksiyon olarak ortaya çıkmıştır. Enflamasyon sırasında peptiderjik periferel liflerin germinasyonu gerçekleşir ve nöropeptid içeriğinde artış meydana gelir (Awawdeh et al., 2002a; Byers and Taylor, 1993; Kvinnsland and Heyeeraas, 1992). Peptid içeren sinir lifleri sıklıkla bağışıklık hücrelerine, özellikle makrofajlara (Toriya et al., 1997) ve mast hücrelerine (Kabashima et al., 2002) yakın olarak görülür. Ayrıca, bağışıklık hücreleri üzerindeki fonksiyonel nöropeptid reseptörlerinin tanımlanması (Hartung et al., 1986; McGillis et al., 1991), nöropeptidlerin nöroimmünomodülasyonda rolü olduğunu ortaya koymaktadır.

CGRP'nin, SP ile aynı anda salınmasına ve güçlü bir vazodilatör olmasına rağmen (Brain et al., 1985) immünosupresif etkilere sahip olduğu düşünülmektedir (Taylor et al., 1998). SP'nin aksine CGRP, IL-2 üretimini ve murin T hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (Wang et al., 1992). CGRP makrofajların IF- $\gamma$ 'ya yanıt olarak hidrojen peroksit üretme, antijen sunma (Nong et al., 1989) ve farklılaşma (Owan and Ibaraki, 1994) yeteneklerini inhibe eder. Ayrıca, atipik sitokin salgılanmasını indükleyerek (Levite, 1998) uyarılmamış Th fenotipini doğrudan etkileyebilir.

### **2.3.5.3. Dişeti ve Periodontal Dokularda Nöropeptidler**

İnsanlarda periodontal dokuları innerve eden lifler SP, CGRP, VIP ve nöropeptit Y (NPY) dahil olmak üzere bir dizi nöropeptidlere karşı immünoreaktiftir (Luthman et al., 1988). İmmünohistokimyasal olarak bakıldığında SP, normal insan dişeti dokularında perivasküler olarak ve rete peg içinde lokalize olmuştur (Bartold et al., 1994). Subepitelyal bağ dokusundan kaynaklanan sinir lifleri de bağlantı epiteline nüfuz edebilir. İntraepitelyal sinirler miyelinsizdir ancak bir dizi nöropeptit içerir (Bartold et al., 2000). Yapılan çalışmalarda, birleşim epitelinin SP sinir lifleri tarafından yoğun şekilde innerve edildiği gösterilmiştir (Nagata et al., 1992). Ayrıca, Malassez epitel hücre kalıntıları içindeki nöroendokrin hücrelerinin SP, CGRP ve VIP nöropeptidlerini eksprese ettiği gösterilmiştir (Kvinnslund et al., 2000).

CGRP, VIP ve NPY'nin sıçan periodontal ligamentindeki kan damarları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu, moleküllerin bölgedeki kan akışını düzenlemede rolü olduğunu düşündürmektedir (Kato et al., 1996). Periferik sinir yaralanmasını takiben sıçanlarda kesici dişin lingual periodontal ligamentindeki miyelinli aksonlarda NPY'nin uyarılmış olması, rejenerasyonda katkısı bulunabileceğine işaret etmektedir (Wakisaka et al., 1996). Periferik sinir yaralanmasını takiben trigeminal ganglionda artan NPY seviyeleri daha önceleri rapor edilmiştir (Wakisaka et al., 1993).

### **2.3.5.4. Nöropeptidler ve Periodontitis**

Önemli bir ağız sağlığı sorunu oluşturan periodontitis, kronik enflamatuvar bir durumdur ve nörojenik bileşenlerden oluşmaktadır (Gyorfi et al., 1992). Oral kavite travmatik durumlara, PH değişikliklerine, sıcaklık değişikliklerine ve endotoksik değişkenlere sürekli maruz kalmaktadır. Bu faktörlerden herhangi birine uzun süre maruz kalınması duyarlı dokularda nörojenik enflamasyonun uyarılması için yeterli

olabilir. Peptiderjik nöronların dişetini yoğun bir şekilde innerve ettiğini (Luthman et al., 1989) ve DOS'ta nöropeptitlerin tanımlanması (Hanioka et al., 2000; Linden et al., 2002; Lundy et al., 1999) periodontitis ve diğer orofasiyal enflamatuvar bozuklukların belirli nöropeptidlerdeki dengesizlikler tarafından modüle edilebileceği fikrini giderek daha belirgin hale gelmektedir. Gingivitis ve periodontitisten etkilenen bölgelerden elde edilen dokudaki nörokimyasal belirteçlerin dağılımı (Bartold et al., 1994; Luthman et al., 1989), periodontitis patogenezinde nöropeptidlerin olası bir rolü olduğunu göstermektedir. Nöropeptidlere ek olarak periodontal hastalıkta enflamasyonun yoğunluğu ve süresi aynı zamanda karmaşık düzenleyici enflamatuvar araçlar ve immün hücreler tarafından da kontrol edilir. Sonuç olarak, periodontal sağlık ve hastalığın nörojenik bileşenlerin anlaşılması zordur, çünkü nöropeptid seviyelerindeki değişiklikler üst üste binen kimyasal aktivite dizisinin sadece bir parçasıdır. Periodontitisten etkilenen deneklerde, sağlıklı bölgelere kıyasla hastalıktan etkilenen dişlerin DOS'unda hem SP hem de NKA seviyeleri önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (Linden et al., 1997). Bu çalışmada, DOS'taki SP ve NKA'yı ölçmek için radyoimmünoassay kullanılmıştır ve izole edilen takikininlerin cepte mi, bağ dokusunda mı yoksa her ikisinde mi işlev gördüğü ortaya konmamıştır. Yine de bu anlamda, SP'nin spesifik olarak insan dişetindeki enflamatuvar odaklara karşı bildirilen immünolokalizasyonu ile ilgili olabileceği söylenebilir (Bartold et al., 1994). Nöropeptidler önce dişeti bağ dokusuna salınıp buradan da epiteldeki difüzyon yoluyla periodontal cebe yayılım göstermektedir. SP, DOS'ta ELISA yöntemi kullanılarak da iltihaplı bölgelerde bulunmuştur (Hanioka et al., 2000). SP PGE2, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  dahil olmak üzere konakçı yanıtının göstergeleri ile önemli bir korelasyon içerisindedir (Hanioka et al., 2000). Ancak SP ve NKA çok düşük seviyelerde (<10 pg/mL) bulunur ve serumda çok kısa bir yarı ömre sahiptir ve bu nedenle, bu nöropeptidlerin DOS kaynağını muhtemelen sinir lifleri veya enflamatuvar hücreler oluşturmaktadır. Periodontitisten etkilenen bölgelerde DOS'taki yüksek SP ve NKA seviyelerinin periodontal tedavinin bir sonucu olarak düştüğü gösterilmiş (Lundy et al., 2000b). Dolayısıyla bu bulgu da takikininlerin yerel bir kaynağı olduğu ve periodontitis ile ilişkili enflamatuvar süreçle bağlantılı olduğu görüşünü desteklemektedir. Plak SP'nin periodontitisteki bazı etkilerine aracılık eden önemli bir yardımcı faktör olabilir (Lieb et al., 1996), çünkü SP'nin *in vitro* olarak monositlerde IL-6 sentezini yalnızca LPS eklendiğinde de indükleyebildiği gösterilmiştir. SP sitokin üretimini artırmaya ek olarak, LPS ile aktive olan makrofajlardan TGF- $\beta$  üretimini sınırlayarak da bir

proenflamatuvar aracı olarak görev yapar (Marriott and Bost, 1998). Nöropeptid düzeylerinde özellikle periodontitis bölgelerindeki SP'de bireyler arasında değişkenlik görülmektedir. Nöropeptid doku seviyelerindeki bireyler arası değişkenliği daha önce yorumlanmış (Maggi et al., 1987) ve duyu sinirlerinin efferent fonksiyonunun yoğunluğu ile doğrudan ilişkili olabileceği öne sürülmüştür.

CGRP, DOS'ta tespit edilmiştir, ancak dişeti iltihabı olan bölgelere kıyasla periodontal sağlıklı olanlarda seviyesi daha yüksek bulunmuştur (Lundy et al., 1999). CGRP herhangi bir periodontitis bölgesinde tespit edilememiş ve hastalıklı bölgelerde bu nöropeptidin parçalanmasından DOS bileşenlerinin sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır (Lundy et al., 1999). Yine, matris destekli lazer spektrometrisi ile karboksipeptidazın CGRP'yi yalnızca aktive etmekle kalmayıp aynı zamanda büyük ölçüde degrade olmasını da sağladığı gösterilmiştir (Lundy et al., 2000a). Antienflamatuvar nöropeptid olan CGRP'nin hızlı degrade olması sadece SP veya NKA değil (Lundy et al, 2000a), periodontal enflamasyondaki takikinlerin de proenflamatuvar etkilerini arttırmaya yardımcı olmaktadır. SP'nin lökositler üzerinde ortaya çıkan etkilerin daha çok uyarıcı, CGRP'nin ise engelleyici olduğu bilinmektedir (McGillis and Fernandez, 1999).

Mast hücrelerinin degranülasyon yoluyla karboksipeptidaz salınımı ilk olarak Brain ve Williams (1989), tarafından önerilmiştir. Bu hipoteze göre, lokal mast hücrelerinden SP ile uyarılmış proteolitik enzimlerin salınımının CGRP'nin hızlandırılmış degradasyonuna yol açabileceği öne sürülmüştür. Bu nöropeptidin osteoklastik kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiği ve osteogenezisi uyardığı da gösterilmiştir. Bu nedenle CGRP'nin degradasyonu periodontal yıkımla ilgili olabilir (Kontinen et al., 1996).

DOS'ta rapor edilen VIP seviyeleri, bu nöropeptidin periodontal sağlık ve hastalıkta potansiyel bir patofizyolojik rolü olduğu fikrini desteklemektedir (Linden et al., 2002). VIP, klinik olarak sağlıklı bölgelerdeki seviyelere kıyasla periodontitisten etkilenen bölgelerde önemli ölçüde yükselmiştir. Cerrahi olmayan periodontal tedavi, periodontitis bölgelerinde VIP düzeylerinde bir azalma ile birlikte klinik bir iyileşme ile sonuçlanmıştır (Linden et al., 2002). VIP çok düşük seviyelerde (<2 pg/mL) ve serumda kısa bir yarı ömre sahiptir (Hoyle, 1995). Dolayısıyla, nispeten yüksek DOS VIP seviyelerinin kaynağının sinir lifleri veya enflamatuvar hücreler olması muhtemeldir. Enflamatuvar bir yanıt sırasında VIP'nin zamanında salınımının, devam

eden immün yanıtın regülasyonunu etkileyen bir otokrin/parakrin faktör olarak hareket etmesi olasıdır. Bununla birlikte, SP'nin proenflamatuvar sitokinlerin salınımını teşvik ettiği de bilinmektedir. SP ve VIP için karşıt roller daha önce akciğer paranzimindeki bir mürin enflamasyon modelinde tarif edilmiştir (Kaltreider et al., 1997).

Nöropeptidler periferik dokular üzerinde trofik bir etki göstermektedir ve bu sistem uyarıcı olarak hareket ederek normal duyuşsal uyarıların devamlılığının ve doku bütünlüğünün koruyucusu gibi fonksiyon görür (Maggi and Meli, 1988).

### **2.3.5.5. Nöropeptidlerin Kemik Üzerindeki Etkisi**

Kemik rezorpsiyonu ve oluşumu arasındaki dengenin bozulması, romatoid artrit periodontitise kadar çeşitli hastalıkların merkezinde yer alır. Kalsitonin, paratiroid hormonu ve D3 vitamini gibi sistemik hormonlar kemik metabolizmasında önemlidir. Yerel mikro-çevre kemiğin yeniden şekillenmesinde önemli bir faktördür ve sinir sisteminin bu bağlamda önemli bir rolü olabileceğine dair kanıtlar birikmektedir. Kemiğin peptiderjik innervasyonu vasküler sistemin duyuşsal fonksiyonunu veya kontrolünü yansıtabilir; bununla birlikte, nöropeptidlerin kemik metabolizmasında önemli modülatör rollere sahip olabileceği ortaya çıkmaktadır (Lundy and Linden, 2004).

Kemik metabolizması sürecine nöropeptid katılımı ilk olarak, CGRP'nin kalsitoninin N-terminal bölgesine amino asit dizisindeki benzerliğiyle ortaya çıkarılmıştır. CGRP'nin kan damarlarıyla yakından ilişkili sinir lifleri yoluyla kemikte bol miktarda dağıldığı gösterilmiştir (Hill and Elde, 1991). Ek olarak, CGRP lifleri de spesifik bölgesel dağılım gösterir ve osteoklastlarla yakın temas halindedirler (Imai et al., 1997). Periodontal ligamentte kök sementine yakın uzanan CGRP-immünoreaktif sinir lifleri gözlenmiştir (Heyeraas et al., 1993). Ayrıca, deneysel olarak sıçanların periapikal lezyonlarında, CGRP-immünoreaktif sinir liflerinin yoğunluğunun zirveye ulaştığı bölgelerde, osteoklastların sayısının azalmaya başladığı gösterilmiştir (Toriya et al., 1997). Bu da CGRP'nin kemik rezorpsiyonunu inhibe etmede olası bir rolü olduğunu düşündürür. Çeşitli deneysel çalışmalar, CGRP'nin kemiğin yeniden şekillenmesine katılımını desteklemektedir. Hukkanen vd. (1993), CGRP liflerinin kallus oluşumu ve ardından yeniden şekillenme ile kırık çevresinde hızla çoğaldığını göstermiştir. CGRP liflerinin ayrıca ortodontik diş hareketinin neden olduğu mekanik strese yanıt olarak periodontal ligamentte arttığı gösterilmiştir (Kato et al., 1996). Bu nedenle, sadece CGRP liflerinin dağılımının değil, aynı zamanda dinamiklerinin de bu

nöropeptidin kemiğin yeniden şekillenmesinde önemli bir rolü olduğunu görüşünü desteklemektedir (Irie et al., 2002).

CGRP'nin kemik hücreleri üzerindeki etkisi kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. CGRP'nin yumurtalıkları alınmış sıçanlarda kemik rezorpsiyonunu engellediği gösterilmiştir (Valentijn et al., 1997). CGRP'nin osteoklastlar üzerindeki etkisi kısmen hücre hareketliliğinin inhibisyonu şeklindedir (Alam et al., 1991) ve CGRP osteoblastların farklılaşmasını ve sitokin üretimini modüle eder (Valentijn et al., 1997). CGRP lifleri ve osteoblastlar arasındaki histokimyasal ilişkiler de gösterilmiştir (Imai et al., 1997). CGRP dahil olmak üzere birçok nöropeptid için osteoblastlarda reseptörler bulunur (Bjurholm et al., 1992). Yine, son zamanlarda osteoblastların CGRP'yi endojen olarak eksprese ettiği gösterilmiştir. CGRP'yi yüksek seviyelerde eksprese eden osteoblastlara sahip transgenik fareler, artmış kemik oluşumu ve artmış kemik hacmi ile karakterize edilmiştir. CGRP'nin kemiğe sadece sinir yoluyla değil, aynı zamanda bir otokrin döngü yoluyla da etki ettiği gösterilmiştir (Imai and Matsusue, 2002). CGRP'nin osteoblast ve osteoklast kültürlerindeki etkileri, *in vivo* lokalizasyonu ile birlikte sinir sisteminin kemik metabolizmasını etkilediğine de işaret etmektedir (Lundy and Linden, 2004).

Kemik dokularında nöropeptitlerin varlığı sadece immünohistokimya ile değil, aynı zamanda radyoimmünoanaliz ile de gösterilmiştir (Ahmed et al., 1994). CGRP'nin osteoklastik kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiğini ve osteogenezi uyardığını gösteren deneysel çalışmalar (Kontinen et al., 1996), CGRP'nin kemik metabolizmasında merkezi bir rolü olduğunu desteklemektedir. DOS'taki nöropeptidlerle ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtlara bakıldığında, hastalığa özgü karboksipeptidaz parçalanması sonucu olarak periodontitis bölgelerinde (Lundy et al., 1999) başlangıçta şaşırtıcı seviyede CGRP eksikliğini ortaya çıkmaktadır (Lundy et al., 2000a). Bu bağlamda CGRP eksikliği, dengeyi periodontal kemik kaybı lehine çevirmede önemli bir faktör olabilir.

#### **2.4. Periodontal Hastalıkta Genetik Duyarlılık**

Periodontitis, dişleri destekleyen dokuların kronik enflamatuvar bir hastalığıdır. Yıkıcı periodontal hastalığa duyarlı kişilerde, konağın bağışıklık sistemi ile oral bakteriler arasında bir dengesizlik vardır. Bu bireylerde belirli mikrobiyal patojenler çoğalabilir ve bu da periodontal dokularda enflamatuvar reaksiyonların indüklenmesine yol açar. Bu enflamatuvar reaksiyonlar, zaman içinde periodonsiyumu

tahrib eder. Tedavi edilmezse dişler alveoler kemiğe olan bağ desteğini kaybeder ve alveoler kemik rezorbe olur ve bunun sonucunda etkilenen dişler mobil hale gelir ve sonunda kaybedilir (Schaefer et al., 2022).

Ağız boşluğu insan vücudunun en karmaşık ekosistemlerinden biridir ve sayısız farklı bakteri türünü içerir. Bu türler, insan organizması ve konakçı tarafından sağlanan çevresel koşullara uyum sağlayan oral mikrobiyota ile birlikte değişime uğramıştır. Normal oral mikrobiyota konağı dış patojenlerden korur ve bağışıklık sistemi, homeostazı sürdürmek için bakteri çoğalmasını kontrol eder. Çevresel faktörler, bağışıklık sistemi ve ağız boşluğundaki patojenler arasındaki karmaşık etkileşim büyük ölçüde genler tarafından düzenlenir. Genler, reseptör özgülüğünü ve bakteri türlerine duyarlılığı etkileyen moleküllerin yanı sıra bağışıklık reseptörlerini de kodlar. Bununla birlikte enflamatuvar sinyallere aracılık eden sinyal iletim yollarını kodlayarak, enflamatuvar yanıtın yoğunluğunu düzenler ve etkilerler ve organizmanın dış ve iç uyaranlara esnek bir yanıt vermesine izin verirler (Schaefer et al., 2022).

Konağın bağışıklık sistemi zamanla değişir ve yaşam tarzı faktörlerinden, diğer hastalıklardan ve yaştan olumlu veya olumsuz şekilde etkilenebilir. Konağın genetik yapısı, epigenetik etkiler veya somatik mutasyonlar yoluyla yaşam boyunca değişebilir. Sonuç olarak, periodontitis karmaşık bir hastalık olarak kabul edilir. Genetik araştırmalar, bağışıklık tepkisine aracılık eden faktörlerin anlaşılmasına yardımcı olabilir ve bu tepkinin, aynı çevresel etkenler ve benzer yaşam tarzına sahip bireyler arasında neden büyük ölçüde farklılık gösterdiğini açıklayabilir. Genetik araştırmaların önemli bir amacı, hastalığın altında yatan genleri belirlemek ve bu lokuslardaki potansiyel risk varyantlarının genetik etkilerini tahmin etmektir. Genetik varyasyon, çoğunlukla genlerin düzenleyici bölgelerini etkiler ve bu da ekspresyonlarında küçük değişikliklere yol açar (Schaefer et al., 2022).

#### **2.4.1. Periodontitis ve Genetik İlişkisi**

Geçen yüzyılın ortalarına kadar, uzun süre kötü ağız hijyeni geçmişi olan kişilerde periodontitis gelişeceği düşünülmekteydi. Bunun temel nedeni, yapılan çalışmalarda tüm periodontitis formlarının büyük ölçüde bakteriyel patojenlerle ilişkili olduğunun ve bunlara karşı immünolojik tepkiler gerçekleştiğinin gösterilmesidir. Ayrıca periodontal patojenlerin prevalansı ve oranlarının periodontitisli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu kabul edilmiştir (Griffen et al., 1998; Van Winkelhoff et al., 2002). Periodontitisin yalnızca bir veya daha fazla spesifik

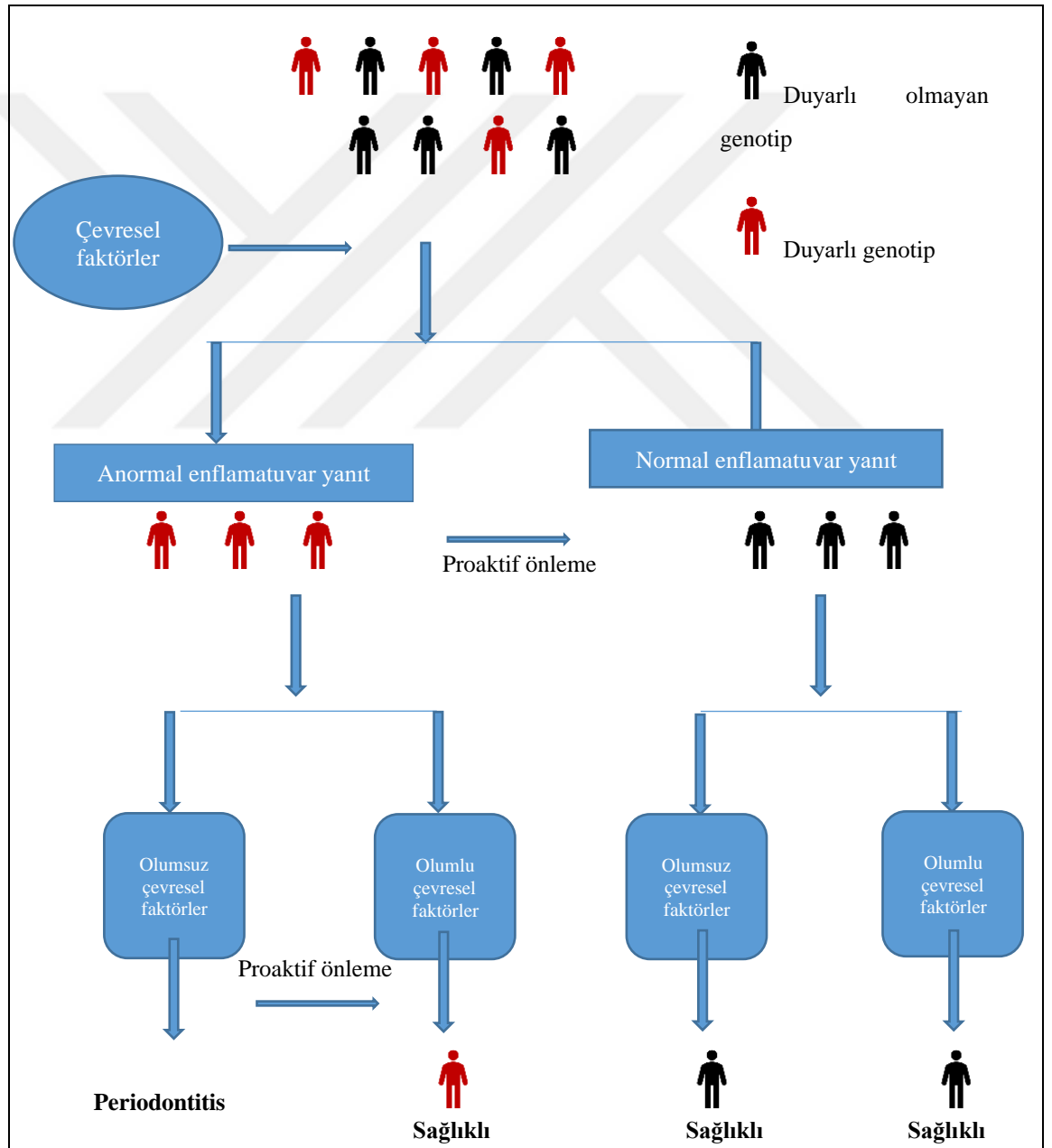
periodontal patojenden kaynaklanıp kaynaklanmadığı açık bir tartışma olarak kaşımızdadır. Bu durumda enfekte olmuş deneklerin çoğunda periodontitis gelişmelidir. Ancak periodontal patojenler sağlıklı kişilerde olduğu kadar gingivitisli veya minör periodontitisli hastalarda da nispeten yüksek bir prevalans göstermektedir. Örneğin, Ohio, ABD'de 0-18 yaş arası 222 sağlıklı çocuk üzerinde yapılan bir çalışmada, *A. a* ve *P. gingivalis*'in patojenik suşları sırasıyla çocukların %48'inde ve %36'sında saptanmış ve 20 günlük bebeklerde her iki tür de bulunmuştur (Lamell et al., 2000). Yine, gingivitisli veya minör periodontitisli geniş bir hasta grubunda (ortalama yaş 52), *A. a* ve *P. gingivalis* benzer şekilde yaygın tespit edilmiştir (sırasıyla %38 ve %32) (Wolff et al., 1993).

Son yıllarda epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, bakteri varlığının her zaman periodontal ataşman kaybına neden olmadığını, ancak periodontitis için konak faktörlerinin de gerekli olduğunu göstermiştir. Patogenez modeline, yüksek risk grupları kavramı da eklenmiş ve bu periodontitisin genetik bir arka plana sahip olabileceği hipotezini geliştiren faktörlerden biri olmuştur (Schaefer et al., 2022).

1966'da yapılan bir çalışma, bazı bireylerin diğerlerine göre periodontitis açısından daha fazla risk altında olduğunu ortaya çıkaran ilk araştırmalardan biridir (Trott and Cross, 1966). Bu çalışma 1800'den fazla denekte diş kaybının başlıca nedenlerini araştırmıştır. Çalışma her yaş kategorisinde az sayıda hastada periodontitis nedeniyle birçok dişin kaybedildiğini göstermiştir. Bu durum, diş kaybı olamayan bir Amerikan popülasyonunsa yapılan 28 yıllık bir çalışmada da doğrulanmıştır. Dişlerini kaybeden bu popülasyonun %14.4'ünün o dönemde kaybedilen tüm dişlerin %64'ünü oluşturduğu bulunmuştur. Dişlerini kaybeden ancak kısmen dişsiz kalanların %13.8'i, bu grupta kaybedilen tüm dişlerin %60.2'si kadar kalmıştır. Yapılan analizler, dişeti iltihabının diş kaybı için en güçlü risk faktörü olduğunu göstermiştir (Burt et al., 1990). Aynı durum, 15 yıldan uzun süren periodontitis hastalarında periodontal tedavinin etkisini değerlendiren iki çalışmada da bulunmuştur (Hirschfeld and Wasserman, 1978). Bu çalışmalar, hasta popülasyonunun %20'sinin tüm kaybedilen dişlerin yaklaşık %75'ini oluşturduğunu göstermiştir.

Periodontitis gelişimi için yüksek risk kavramı, periodontal hastalığın doğal seyirini araştıran çalışmalarda doğrulanmıştır. Bir çalışmada, Batı Java'da düzenli diş bakımından yoksun uzak bir köy halkında periodontal sorunların başlaması ve ilerlemesi incelenmiştir (Van Der Velden et al., 2006). Araştırmacılar, bireylerin

%20'sinde şiddetli yıkım geliştiğini, geri kalan popülasyonda ise hafif-orta düzeyde yıkım geliştiğini bulmuşlar ve herkesin periodontitise eşit derecede duyarlı olmadığını öne sürmüşlerdir. Yapılan araştırmalar, konakçı duyarlılığının genetik bir arka plana sahip olabileceği hipotezini şekillendirmiştir. Konağın antimikrobiyal yanıtı kısmen genler tarafından tanımlanır ve popülasyona göre değişebilir. Konağın antibakteriyel yanıtını kodlayan genler ve bağışıklık sistemi tarafından hedeflenen bakteriyel faktörlerdeki genetik varyantlar, bağışıklık sistemi ve çevresel faktörlerin ilişkisini kötü yönde etkileyebilir ve bazı durumlarda hastalık gelişimine yol açabilirler (Şekil 2.3) (Foxman and Iwasaki, 2011).



Şekil 2.3. Genotip ve periodontitis ilişkisi (Foxman ve Iwasaki, 2011'den uyarlanmıştır)

Bireyin periodontal yıkım boyutunu belirleyen bağışıklık yanıtı, sistemik hastalıklar (örn. diyabet), sigara kullanımı, stres, beslenme ve yaş gibi diğer iç ve dış faktörler tarafından da etkilenmektedir (Jauhiainen et al., 2020; Kinane et al., 2006) ve bu etkenler aynı zamanda bireyin genetik yapısı ile ilişkilidir. Oral mikrobiyota, bağışıklık sistemini etkileyen iç ve dış faktörler ve konağın genel genetik yapısı arasındaki bu etkileşim bireyin periodontitise karşı duyarlılığını oluşturur (Schaefer et al., 2022).

Periodontitisin genetik temeli birçok çalışmada gösterilmiştir ve genetik varyantların hastalık fizyolojisine etkileri analiz edilmiştir. Son yıllarda, genetik analiz yöntemlerinde ve hastalıkların genetik açıdan değerlendirilmesinde muazzam gelişmeler olmuştur. Bir dokudaki hedef genlerin ekspresyonunun nasıl düzenlendiğini anlamak için genetik elementleri tanımlamak ve hareket tarzlarını karakterize etmek önemlidir.

#### **2.4.2. Genel Genetik Kavramlar**

Genetik, organizmalarda kalıtım ve varyasyonu araştıran bir bilim dalıdır. Genler, enzimler ve haberci moleküllerin yardımıyla proteinlerin üretimini yönlendirir. İnsanlarda genler 23 çift kromozom üzerinde bulunur, 22 çift otozomal kromozom (otozomlar) ve bir çift cinsiyet kromozomu (gonozomlar, dişiler için XX ve erkekler için XY). Her çiftten bir kromozom babadan ve bir kromozom anneden alınır. Kromozomların tamamına genom denir. Her kromozom uzun bir deoksiribonükleik asit (DNA) çifti içerir. DNA, bir şeker-fosfat omurgası ile kimyasal olarak bağlanan nükleotid dizilerinden oluşur. Nükleotidler, DNA'nın yapı taşlarını oluşturur ve nitrojen içeren bazlardan ortaya çıkar. Dört nitrojen içeren, baz mevcuttur: adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timin (T). Kromozomlarda DNA çift sarmal şeklinde düzenlenmiştir, iki polinükleotid zinciri bazlar arasındaki hidrojen bağıyla birbirine bağlanır. İki tek sarmallı nükleotid zincirinin eşleşmesi tamamlayıcıdır, G sadece C ile ve A sadece T ile çiftleşir, bunlara baz çiftleri (bp) denir. Bu dört nükleotidin sırası, DNA molekülünün o kısmında kodlanan bilginin anlamını belirler, bu tıpkı harflerin sırasının bir kelimenin anlamını belirlediği gibidir (Strachan ve Read, 2019). Neredeyse vücuttaki her bir hücre, genomu oluşturan yaklaşık 3 milyar DNA baz çiftinin tam bir kopyasını içerir (Ulusal İnsan Genomu Araştırma Enstitüsü [NHGRI], Ulusal Sağlık Enstitüleri [NIH], [www.genome.gov](http://www.genome.gov)).

Genetik kod üç nükleotidlik gruplar halinde okunur, her bir trinükleotid dizisine spesifik bir amino asidi kodlayan bir kodon adı verilir. Bir gen çeşitli bölümlerden oluşur. Promotor bölge, kodlama bölgesinin transkripsiyonunun düzenlenmesi ve başlatılması için gerekli olan ve bu bölgenin yukarısındaki spesifik bir nükleotid dizisidir. İtronlar, protein kodlamayan nükleotidlerin dizileridir ve bir proteinin amino asit dizisini kodlayan eksonları çevreler (Strachan and Read, 2019). Genomda bilinen ekzonların bir araya gelmesine ekzom denir. İnsan genomundaki tahmini 20.000 proteini kodlayan genlerin her biri, ortalama dört protein varyantını kodlayacak şekilde alternatif yollarla kopyalanabilir (ENCODE-Project-Consortium, 2012). Proteinler organlar ve dokular gibi vücut yapılarını taşlarını oluşturur, hücreler arasında sinyaller taşır ve biyokimyasal reaksiyonları kontrol eden enzimlerin yapısında bulunur. Bir hücrenin DNA'sı mutasyona uğrarsa, vücudun olağan durumu aksayabilir ve hastalığa yol açabilecek anormal protein veya anormal protein miktarları üretilebilir (Schaefer et al., 2022).

DNA'da bulunan bilgilerin hücresel fonksiyona çevrilmesi için bu bilgilerin aktarılması gerekmektedir ve DNA'daki bilgiler ribonükleik asit (RNA) moleküllerine kopyalanır. Çeşitli RNA transkriptleri vardır. Proteinlerin amino asit dizisini kodlayan bilgiyi taşıyan tipe haberci RNA (mRNA) denir ve ekzonlardan kopyalanır. MikroRNA'lar veya kodlamayan RNA'lar (ncRNA) gibi protein kodlamayan RNA'lar, büyük ölçüde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde işlev görür. (Strachan and Read, 2019). Belirli bir hücrede bulunan tüm transkriptlerin bir araya gelmesine transkriptom denir.

Dizileme teknolojileri, bir DNA dizisindeki nükleotidlerin tam sırasını belirler. Tüm insan kromozom dizilerinin 2006 yılında uluslararası İnsan Genom Projesi tarafından yayınlanmasından sonra, 1000 Genom Projesi ortak insan genetik varyasyonunun kapsamlı bir tanımını sağlamak için başlatıldı. 26 farklı popülasyonundan 2504 bireyin genomlarının dizilenmesiyle, insanlarda toplamda 88 milyondan fazla varyant tanımlandı. Bu varyantların çoğu nadirdir ve yalnızca yaklaşık 8 milyonu %5'ten fazla sıklığa sahiptir. DNA'nın belirli bir kromozomal bölgesindeki (lokusu) alternatif varyantlara alel denir, ve bir bireyin kromozomlarında alellerin tümüne genotip denir. Belirli bir lokus için iki veya daha fazla alel doğada bulunabilir ve farklı frekanslarda ortaya çıkabilir. Minör alel frekansı (MAF), bir popülasyonda en az görülen alel oranıdır ve %0-50 arasında değişebilir. MAF'si >%5

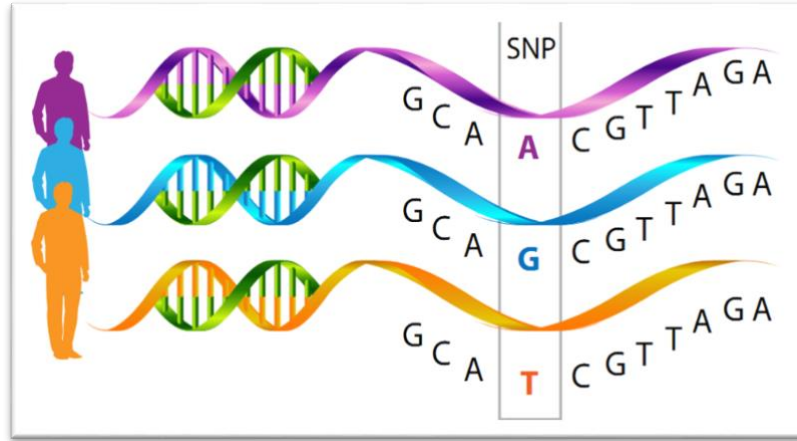
olan varyantlar ortak varyantlar olarak adlandırılır. Bir varyantın MAF'si %1-5 arasında değişiyorsa, buna nadir varyant denir. Sıklıkları %1'den az olan genetik varyantlara mutasyon denir (Schaefer et al., 2022).

Bir mutasyon veya bir genetik varyantın etkisi bulunduğu gen bölgesine göre değişebilir. Örneğin, bir genin kodlama bölgesinde bir mutasyon meydana gelirse, bu, bir amino asitin yer değiştirmesine ve dolayısıyla proteinin işlevini etkileyebilecek şekilde değiştirilmiş bir protein yapısına neden olabilir. Veya bir genin düzenleyici bölgesinde mutasyon meydana geldiğinde, genin ekspresyon seviyesini değiştirebilir. Bir genetik varyantın hastalığa yatkınlığı etkileme gücü, genotip ilişki riski (GRR), hastalık riskini o genotipe sahip olan ve olmayan bireyler arasındaki oran olarak tanımlanır. 1,1'lik bir oran, riskte %10'luk bir artışa eşittir ve genellikle olasılık oranı (OR) olarak ifade edilir. Bununla birlikte, bir genetik varyant veya mutasyonun taşıyıcılığı kesin olarak hastalığa yol açmaz, ve mutasyon veya risk varyantı olan bireylerin yalnızca bir kısmında hastalık gelişecektir. Bu oran penetrans olarak tanımlanır (Schaefer et al., 2022).

#### **2.4.3. Gen Polimorfizmi ve Periodontal Hastalıklarla İlişkisi**

Alel çeşitliliği popülasyonun genetik çeşitliliğini oluşturmaktadır. Genetik çeşitliliği tanımlamak için ise “heterozigotluk” ve “polimorfizm” tanımları kullanılmaktadır. Bireylerin heterozigot olduğu, genlerin yüzdesi veya oranı ile tanımlanır. Her gen lokusu, bir allelin birbirinin aynı kopyasını (homozigot) ya da farklı iki allelin birer kopyasını (heterozigot) taşımaktadır. Genom üzerindeki bir bölgenin popülasyondaki bireylerde anlamlı oranda farklılık göstermesine ise “polimorfizm” denilmektedir. Gen polimorfizmleri, bireyler arasında sekans olarak değişir ve çok yaygın olarak (popülasyonun en az %1'ini etkileyen) görünmektedir (Nielsen, 2004).

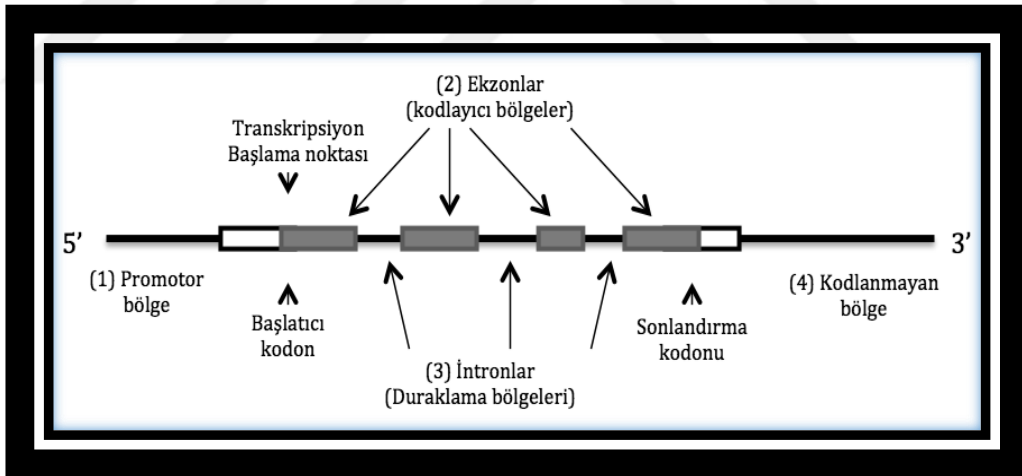
Polimorfizmlerin en yaygın şekli, genomik DNA'daki tek baz çiftindeki (bp) bir değişiklik olan tek nükleotid polimorfizmidir (Şekil 2.4) (Nielsen, 2004). İnsan genomunda her 300 ile 1000 bazda bir gözlenmekte olup heterojenitenin en önemli kaynağıdır. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) farklılıkları çoğu hücre fonksiyonu üzerine etki etmez. Etkileri, hastalıklara yatkın olma düzeyinde veya bir ilaca verilen yanıtta şekliyle kalır (Frazer et al., 2009). SNP gen fonksiyonunu etkileyebilir. Örneğin, bir promotor bölgesinde bulunan SNP, üretilen mRNA miktarını etkileyebilir.



Şekil 2.4. Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP) (National human genome research institute'ten alınmıştır)

İnsan geninde polimorfizmin gelişebildiği bir veya birkaç bölge bulunmaktadır (Şekil 2.5)

1. Promoter bölge veya 5'- kenar (flanking) bölgesi
2. Ekzon veya gen kodlama bölgesi
3. İtron (Ekzonlar arasında yerleşen ve amino- asit kodlamayan) bölgesi
4. Kodlanmayan bölge veya 3'- UTR bölgesi



Şekil 2.5. İnsan geninin genel yapısı ve polimorfizmlerin oluşabileceği bölgeler (Takashiba ve Naurishi, 2006'dan uyarlanmıştır)

Enflamasyon, doku travmasını takiben gelişen ve doku onarımının indüksiyonu ile tamamlanan karmaşık bir süreçtir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi enflamatuvar yanıtın başlaması, ilerlemesi ve kontrol altına alınması için önemlidir. Bu yüzden doku hasarına karşı oluşan yanıtta gözlenen farklılıklar ve klinik olarak enflamasyonun oluşumundaki çeşitlilik genetik varyasyonlar ile ilişkili olabilir ve anormal enflamatuvar yanıtın gelişmesinde bu varyasyonlar bireyleri hastalığın görülme sıklığı açısından etkileyebilir (Takashiba and Naurishi, 2006). Enflamatuvar

sürecin kontrolünde yer alan bu genlerde SNP'lerin araştırılmasına büyük ilgi olmuştur. Böyle bir yaklaşım, çeşitli ilaçlara ve tedavi yöntemlerine yanıt verenler ve yanıt vermeyenler için potansiyel belirteçlerin ortaya çıkması ve ayrıca terapötik müdahale için hedeflerin belirlenmesine yardımcı olabilir (Takashiba and Naruishi, 2006).

Periodontal hastalığın ilerlemesi, bireyin bağışıklık sistemi ile ilgilidir ancak ağırlıklı olarak da kişinin genetik yapısından etkilenen konak yanıtı tarafından yönetilir. Bu nedenle, konak yanıtındaki bir dizi genetik varyasyon veya eksiklikler periodontitise yakalanma olasılığını arttırabilir. Genel olarak, bir gen tarafından belirlenen fizyolojik süreç hastalığın ortaya çıkması veya şiddeti ile ilişkilendirilmişse, bu rolü için bir aday olarak kabul edilebilir (Tarannum and Faizuddin, 2012). Fakat hastalığın ortaya çıkması ve ilerlemesindeki riskin sadece gen ile ilişkili olmadığı, aynı zamanda çevresel etkiler ile oluşabileceğini düşündüren daha komplike patojeniteler de olabilir (Doğan vd., 2012).

Bir hastalığı polimorfizm ile ilişkilendirmek için;

- Polimorfizm genin ürettiği ürünü etkilemeli
- Popülasyonundaki sapmalar tanımlanmalı
- Sigara veya sosyo-ekonomik durum gibi faktörler değerlendirilmeli
- Polimorfik gen ürünü hastalık etyopatolojisini etkilemelidir (Kinane et al., 2005).

Periodontitise ile ilgili farklı gen polimorfizm çalışmaları yapılmıştır, bunlardan en önemlileri; sitokin geni, immüno-reseptör geni, metabolizma ve antijenin tanınması ile ilişkili genlerde meydana gelen polimorfizmlerdir.

*IL-1* geni polimorfizmleri, periodontal hastalıklar için potansiyel genetik belirteçler olarak önerilmiştir. Birçok araştırmacı, periodontitis ile *IL-1* geninin spesifik polimorfizminin varlığı arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmiştir (Takashiba and Naruishi, 2006). Bununla birlikte, *IL-1* genetik polimorfizmi ile sigara gibi çevresel faktörler arasında açıklanmamış bir etkileşim de mevcuttur. Genotip-pozitif *IL-1* allel kombinasyonunu taşıyan sigara içenlerde periodontitis gelişme riski daha yüksek olabilir. Bu durum, periodontitise yatkınlığın belirlenmesinde genetik-

çevresel etkileşimin tek başına genetik faktörlerden daha önemli olduğunu düşündürmektedir (Meisel et al., 2004).

TNF- $\alpha$ , periodontitiste en çok araştırılan sitokinlerden biridir (Endo et al., 2001). *TNF- $\alpha$*  geninin promotor bölgesinde 238 (G-A) ve 308 (G-A) pozisyonlarında polimorfizmler olduğu bildirilmiştir (Fassmann et al., 2003). Yüksek promotor aktivitesi ve gelişmiş TNF- $\alpha$  üretimi ile 308 A aleli ilişkilendirilmiştir (Fassmann et al., 2003; Soga et al., 2003). Bununla birlikte, genel olarak TNF- $\alpha$  polimorfizmi ile periodontitis arasında yetersiz bir ilişki rapor edilmiştir. Örneğin, üç farklı çift alelik polimorfizm (238, 308 veya +252 gen polimorfizmi) için TNF-a genotiplerinin bir çalışmada, hastalar ve kontroller arasında veya farklı hastalık şiddetine sahip hastalar arasında hiçbir fark gözlenmemiştir (Galbraith et al., 1998). *TNF-a* genindeki (376, 308, 238 ve +489 pozisyonlarında) dört farklı çift alelik polimorfizm üzerine yapılan bir çalışma da test ve kontrol denekleri arasında hiçbir fark ortaya çıkmamıştır (Craandijk et al., 2002).

İmmünoglobulin G (IgG)'nin Fc için reseptörleri (Fc- $\gamma$  R, FCcR), spesifik hümmoral tepkiler ile bağışıklık sisteminin hüccresel bölümü arasında kritik bir bağlantı sağlar (Kobayashi et al., 2000; Meisel et al., 2001). FCcR'ler, IgG antikorlarını ve bağışıklık komplekslerini bağlayan lökositlerin hücre yüzeyinde eksprese edilen bir reseptör ailesi olarak kategorize edilir (Loos et al., 2003). Birçok araştırmada, *FCcR* gen polimorfizmlerinin tüm periodontitis formları ile bağlantılı olabileceğini öne sürmüştür (Chung et al., 2003; Colombo et al., 1998).

Matriks metalloproteinazlar (MMP), periodontal bağ dokusu yıkımında yer alan en önemli enzim gruplarından biridir (De Souza et al., 2003; De Souza et al., 2005). Itagaki vd. (2004), bir Japon popülasyonunda MMP1 veya MMP3 SNP'sinin periodontitis duyarlılığı ile ilişkili olmadığını bildirmiştir. Başka bir araştırma da, *MMP2* genindeki polimorfizmler araştırılmış ve periodontitis ile kesin bir korelasyon bulunamamıştır (Holla et al., 2005). Bugüne kadar yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olması nedeniyle *MMP* genlerinde bulunan, SNP ile periodontitis sürecini ilişkilendirmek güçtür.

## 2.5. CGRP

CGRP, *kalsitonin* genine, alternatif mRNA eklenmesi sonucu üretilen ve 37 amino asit içeren bir nöropeptiddir. *CGRP* gen ailesi kalsitonin, adrenomedullin,

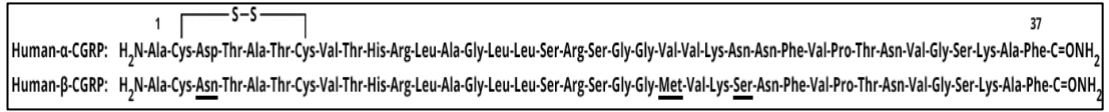
adrenomedullin 2 (intermedin) ve amilin'den oluşur. CGRP'nin kalsitonin ilişkili polipeptit  $\alpha$  ve  $\beta$  (CALCA ve CALCB) olmak üzere iki önemli izoformu vardır. CGRP'nin bu izoformları benzer yapılara ve biyolojik aktivitelere sahiptirler, ancak ayrı genler tarafından oluşturulurlar. CGRP, reseptör aktivitesini modifiye eden protein (RAMP) ve kalsitonin reseptörü benzeri reseptörden (CLR) oluşur. RAMP, reseptör aktivitesini değiştiren bir proteindir. CLR reseptörü de RAMP reseptörüne bağlı başka bir reseptördür. CGRP, fizyolojik ve patolojik durumlar için önemli koruyucu mekanizmalara sahip son derece güçlü bir vazodilatördür. İlk olarak, duyu sinirlerinden salınan CGRP, ağrı yollarını içerir. CGRP'nin içerdiği duyu liflerinin de ağrı süreçleriyle ilgili olduğu bilinmektedir. CGRP, geniş perivasküler lokalizasyon ile vücutta innervasyon yapan duyu liflerinde lokalizedir. Bu liflerin duyu ve efferent (efektör) işlevde ikili bir rolü olduğu bilinmektedir (Russell et al., 2014).

CGRP'nin vasküler koruyucu rolü, çeşitli hayvan modellerinde yapılan çalışmalarla tanımlanmıştır. Bu nedenle CGRP'nin kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde önemli bir peptid olabileceği öne sürülmüştür. CGRP, çeşitli yönleri olan önemli bir nöropeptiddir. İlk olarak CGRP salındığında serebral dolaşımda aktif olarak bulunur. Güçlü bir vazodilatör olmasının yanı sıra ortamdaki sempatik sistem ile karşılıklı bir etkileşimde bulunduğu da bilinmektedir. Bunlara ek olarak enflamasyon sürecinde de çok önemli rolü bulunmaktadır (Russell et al., 2014).

### 2.5.1. CGRP'nin Yapısı

CALCA'nın yapısı, CGRP'nin diğer izoformu olan CALCB'ye benzer. CALCA izoformu dört alandan oluşur. İlk alan, NH<sub>2</sub> terminalinin ilk yedi kalıntısından oluşur ve bir disülfid köprüsü ile bir arada tutulan halka benzeri bir yapı oluşturur. CGRP 8-37, birinci alanın çıkarılmasından oluşan bir CGRP antagonistidir. Bir  $\alpha$  sarmalı oluşturan alan 2, 8 ila 18 kalıntıdan oluşur ve bu kalıntılar, afinitede 50 ila 100 kat azalmaya neden olan delesyonlar meydana getirir.  $\alpha$  sarmalının hidrofilik yüzünde 11. ve 18. kalıntıları bulunur. Bu kalıntılar ayrıca yüksek afiniteli bağlanmayı desteklemede önemli rol oynar. Alan 3, 19 ila 27 kalıntılarında oluşur ve  $\beta$  veya  $\gamma$  bükülmesinden meydana gelir. Dördüncü alan, COOH terminalini içerir ve 28'den 37'ye kadar olan kalıntılardan oluşur. Bir bağlanma bölgesi oluşturmak için Alan 4'ün gerekli olduğu ve bu alanın iki alan dönüşüne sahip olduğu düşünülmektedir. CGRP için tür farklılıkları ve yapı-aktivite ilişkileri araştırıldığında çeşitli amino asitler

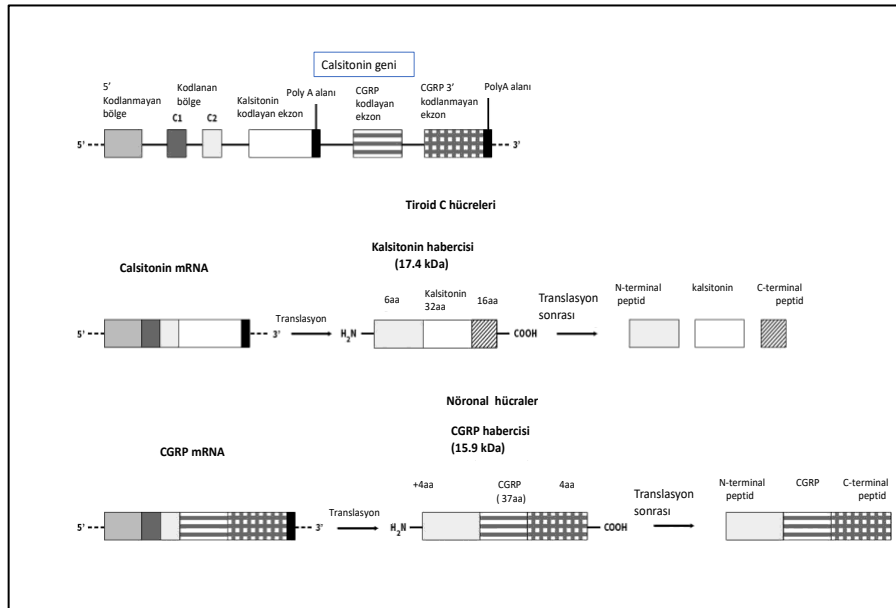
tanımlanmıştır. Reseptör bağlanması ve aktivasyonunda bu amino asitlerin oldukça önemli işlevleri bulunmuştur (Şekil 2.6) (Russell et al., 2014).



Şekil 2.6. İnsan CALCA ve CALCB izoformlarının amino asit kalıntıları

### 2.5.2. CGRP'nin Moleküler Genetiği

CALCA geni, kromozom 11 (11p15.2-p15.1) üzerinde lokalizedir ve altı ekzon içerir. Ekzon I çevrilmemiş bir bölgedir, Ekzon II sinyal peptidini kodlarken, ekzon III N-terminal propeptidi kodlar. Kalsitonin ve CGRP ekzon IV ve V'e lokalizedir. Çevrilmemiş ekzon VI, CALCA'nın bir parçasıdır. Altı ekzonun tümü birincil mRNA transkriptini oluşturur ve ardından kalsitonin veya CGRP mRNA oluşur. İlk üç eksonun V ve VI ekzonları ile birleştirilmesi sonucunda CGRP içeren mRNA üretilir. Exon V, CGRP'yi kodlar. Ekson VI, poliadenilasyon (polyA) sinyalinin yanı sıra CGRP mRNA'nın çevrilmemiş 30 bölgesini de kodlar. mRNA, çift bazlı amino asitlerden parçalanmış pro-CGRP peptidini üretmek üzere çevrilir ve CGRP'nin 37'inci amino asit olarak salınır. CALCB geninin kromozom 11 üzerindeki yapısı CALCA geninin aynısıdır. Ancak ekson 4'te polyA yoktur ve bu nedenle alternatif bağlanma önlenir. Bu gen transkripsiyonu sonucunda sadece CGRP üretilir (Şekil 2.7) (Udayasankar, 2004).



Şekil 2.7. CALC I geninden kalsitonin ve CGRP üretimi

### 2.5.3. CGRP İzofomları

CGRP'nin CALCA ve CALCB izofomları, CGRP I ve CGRP II olarak da adlandırılır. Bu izofomlar, kromozom 11 üzerinde farklı bölgelerdeki iki farklı genden sentezlenir. *CALCB*, *CALC II* geninden kopyalanır, *CALC I* geni, kalsitonin veya CGRP üretmek için alternatif bağlayıcıdır. CALCA ve CALCB benzerdir ve %90 homologdur, ancak insanlarda sadece üç amino asit açısından farklıdırlar. Bu nedenle, bu izofomların biyolojik aktiviteleri benzerdir. CALCA, merkezi ve periferik sinir sisteminde bulunan temel formdur. CALCB, enterik sinir sisteminde bulunan izofomdur. Kalsitonin, ekzon IV'ün ekspresyon sonucu, *CALC I* geninden üretilir. Ekson V ve ekson VI, ekspresyon sonucunda 121. amino asit prohormonuna dönüştürülür. CALCA daha sonra 37 amino asitli peptidi üretmek için bölünür ve mRNA üretilir. Ağırlıklı olarak merkezi ve periferik sinir sistemi boyunca ifade edilen CALCA için alternatif bağlanmayı belirleyen mekanizma hala tam olarak anlaşılmamıştır (Russell et al., 2014).

### 2.5.4. CGRP'nin Fizyolojik Fonksiyonları

CGRP insan vücuduna birçok etkiye sahiptir. Hipofiz hormonu salgılanmasının düzenlenmesinde, pankreas enzimlerinin salınmasında, mide asidi salgısının kontrolünde, termoregülasyonda ve insülin etkisinde rol oynar. CGRP etkisi, kalsitonin reseptörleri aracılığıyla kemiklerde indüklenir. Bu indüksiyon sonucunda hipokalsemi ve osteoklastların proliferasyonu meydana gelir. Ayrıca CGRP'nin kemik dokularında da dağıldığı bilinmektedir. Hamilelik, adet kanaması veya oral kontraseptif kullanımı gibi durumlarda plazma CGRP seviyeleri yükselir. Rahim ve fallop tüplerinde oluşan spontan kasılmalar da CGRP etkisi ile engellenir. Mikrovasküler geçirgenliği artıran CGRP enflamatuvar hiperemi, nötrofil birikimi ve lokalize ödem oluşumunda da etkilidir. Endotel hücrelerinin göçünü artırma işlevine sahip CGRP iskemi, iltihaplanma ve yara iyileşmesi gibi durumlarda önemli rol oynar (Russell et al., 2014).

#### 2.5.4.1. Kardiyovasküler Sistemde CGRP Fonksiyonları

Sinoatriyal düğüm, koroner arterler, atriyal ve ventriküler kas sistemleri gibi kalp dokularında CGRP ve reseptörlerinin dağılımı kalp hızı, kasılma kuvveti, koroner kalp akışı ve mikrovasküler geçirgenlik gibi fonksiyonlarda artışa neden olur. CGRP, vasküler tonus ve anjiyogenezin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. CGRP

infüzyonu sonucunda kalpte perfüzyon basıncı düşer ve koroner damarlarda vazodilatör etki görülür. Ayrıca, CGRP kardiyoprotektif bir etki gösterir. Böylece kapasitans kan damarları doğrudan etkilenir ve çevresel vazodilatasyon gelişir. Ağırlıklı olarak böbrek kan damarlarında bulunan CGRP reseptörlerinin çeşitli işlevleri vardır. Bu işlevler arasında renal kan akışını artırmak, glomerüler filtrasyon hızını artırmak, glomerüler afferent arteriyolları rahatlatmak, renin üretimini artırmak ve arteriyel natriüretik peptit salınımını uyarmak yer alır (Udayasankar, 2004).

#### **2.5.4.2. Merkezi Sinir Sisteminde CGRP Fonksiyonları**

CGRP merkezi sinir sisteminde motor, duyuşal ve bütünleştirci sistemler gibi çeşitli işlevlerde önemli rol oynar. Bunun dışında CGRP çeşitli duyuşları modüle eden bir peptittir ve otonom işlevlerle ilişkili olarak merkezde yayılır. CGRP ayrıca kardiyovasküler, solunum ve uyku fonksiyonları gibi fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynar. Bu işlevlerin yanı sıra CGRP'nin düzenleyici bir rolü vardır. Büyüme hormonu salınımı, hipertermi, katalepsi, motor aktivitesi ve nosiseptif yanıtlarda CGRP'nin düzenleyici bir etkisi vardır. Ek olarak, CGRP uyarıcı amino asit salınımını artırarak uyarıcı eylemleri artırır. Efferent sinir liflerinde bulunan CGRP asetilkolin içeren nöronlarla birlikte bulunur, böylece asetilkolin salınımını modüle eder. Ayrıca asetilkolin reseptörlerinin sentezini artırır ve nörotrofik bir faktör olarak işlev görür (Udayasankar, 2004).

#### **2.5.5. Periodontitis Sürecinde CGRP'nin Rolü**

Daha önceki bölümlerde bahsedildiği gibi CGRP, periodontitis sürecinde önemli rol oynar. CGRP güçlü bir vazodilatördür (Brain et al., 1985) ve sıklıkla SP ile birlikte lokalizedir. Sağlıklı hastalarla karşılaştırıldığında, periodontitis hastalarında CGRP yapısında parçalanmalar gözlenmektedir (Lundy et al., 2000a). Dişeti iltihabı ve periodontitisten etkilenen bölgelere kıyasla periodontal sağlıklı hastalarda CGRP immünoreaktivitesinde kayda değer bir artış tespit edilmiştir (Lundy et al., 1999). Sert vd. (2019), hastalıklı durumlarda CGRP düzeylerinin düştüğünü göstermiştir. Sağlıklı periodontal dokularda CGRP seviyeleri  $48.99 \pm 0.78$  pg/ $\mu$ L 30 s iken hastalıklı durumlarda  $23.93 \pm 1.80$  pg/ $\mu$ L 30s'ye düşmektedir. Bazı çalışmalar, sigara içen periodontitisli bireylerde periodontal sağlıklı dişlere sahip sigara içenlere veya sigara içmeyenlere göre daha yüksek SP ve CGRP seviyeleri ortaya çıkarmıştır. Leira vd. (2019), sağlıklı hastalara kıyasla kronik migren hastalarında artmış periodontal

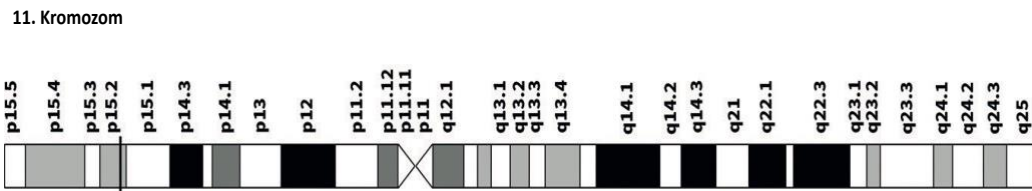
enflamasyonun dolaşımdaki daha yüksek CGRP seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir.

CGRP, T hücreleri yoluyla sitokin üretimini artırabilir ve IL-1 yoluyla nötrofil birikimini artırabilir (Audrey et al., 2020). CGRP ayrıca IL-2 üretimini azaltma, kemik rezorpsiyonunu önleme ve kemik oluşumunu uyarma gibi enflamatuvar yanıtları da azaltabilir (Cekici vd., 2014).

## 2.5.6. Kalsitonin İlişkili Polipeptit $\alpha$ (CALCA)

### 2.5.6.1. CALCA Geninin Yapısı

Kalsitonin ve CGRP'yi kodlayan insan *CALCA* geni, kromozom 11 (11p15.2-p15.1) üzerinde lokalizedir. *CALCA* geni 1 promotor ve 6 ekzondan oluşur ve işlevini CGRP reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirir (Şekil 2.8) (Alkanlı vd., 2017).



Şekil 2.8. CALCA Geni Yapısı

### 2.5.6.2. CALCA Gen Polimorfizmi

*CALCA* geninde meydana gelen birçok gen polimorfizmi tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda *CALCA* genindeki polimorfizmlerin iskemik inme gibi serebrovasküler hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak *CALCA* gen polimorfizmlerinin iskemik inme gelişimi için genetik bir risk faktörü olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. İskemik inme dışında, *CALCA* gen polimorfizmlerinin Parkinson hastalığı, yumurtalık kanseri, kemik mineral yoğunluğundaki bozukluk, migren, şizofreni ve esansiyel hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar için de genetik risk faktörü olabileceği bilinmektedir (Sutherland et al., 2013; Wedemeyer et al., 2009).

*CALCA* genindeki en yaygın polimorfizm, *CALCA* T692C gen polimorfizmidir. Bu polimorfizm dışında *CALCA* geninde, -1786T>C, -624(T/C), 4218(T/C), -1784 (T/C), -1750 (C/G), -1218 (C) /T), -1036 (G/A), *rs7948017* (A/C), *rs5241* (C/A), *rs 2956* (A/T), -855 (G/A), -590 (C/G), *CALCA* (I/D), 2 bp mikrodelsiyon ve *CALCA* A4218T>C gen polimorfizmleri tespit edilmiştir (Alkanlı vd., 2018).

### 3. MATERYAL VE METOT

Araştırmamız vaka-kontrol çalışması şeklinde dizayn edildi ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nca onaylandı (20.07.2020/546). Çalışmaya katılan tüm gönüllülere projenin amacı ve kullanılan yöntemler hakkında sözlü olarak detaylı bilgilendirme yapıldı ve yazılı onayları alındı. Klinik muayene, değerlendirme ve örnek toplama işlemleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda, örneklerin saklanması ve tüm laboratuvar işlemleri ise Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi.

#### 3.1. Klinik Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen bireylerden sistemik anamnez alındıktan sonra, ağız içi muayenesi yapıldı, mevcut tüm dişler değerlendirildi ve radyografik inceleme yapıldı. Periodontal değerlendirmeler yapılırken tüm-ağız olarak Silness-Löe plak indeksi (Pİ) (Silness and Löe, 1964), Löe-Silness Gingival indeksi (Gİ) (Löe and Silness, 1963), sondalamada kanama indeksi (SK) (Ainamo and Bay, 1975), cep derinliği (CD) ve klinik ataçman seviyesi (KAS) ölçümleri dişlerin 6 bölgesinden (bukkal/labial ve lingual/palatinal yüzeylerin mezial, mid ve distal bölgelerinden) yapıldı ve ölçülen en yüksek değer o dişe ait skor/değer olarak kabul edildi. Daha sonra her hastada klinik parametrelerin tüm-ağız ortalama değerleri hesaplandı.

**Pİ:** Periodontal sond (Şekil 3.1), diş eti, diş yüzeyine paralel şekilde gingival oluk bölgesinde gezdirildi ve mevcut dişlerin altı bölgesinde plak değerlendirmesi yapıp skorlandı:

- 0- Diş eti bölgesinde plak yok
- 1- Gözle fark edilmeyen ancak serbest dişeti kenarında ve komşu diş yüzeyinde film tabakası halinde, sond yardımı ile fark edilebilen plak varlığı
- 2- Dişeti bölgesinde inceden orta kalınlığa kadar plak mevcut, gözle fark edilen plak varlığı
- 3- Yumuşak eklenti fazla ve plak sulkusu doldurur

**Gİ:** Periodontal sond, dişin uzun aksına dik şekilde yerleştirilip dişeti kenarına temas ettirilerek meydana gelen kanama ve dişeti yüzey durumuna göre tüm dişlerin altı yüzeyinden ölçüm alındı ve skorlama yapıldı:

0- Sağlıklı dişeti

1- Hafif renk değişikliği, hafif ödem, sondalamada kanama olabilir

2- Eritem, dişeti parlak, ödem, sondalamada kanama var

3- Belirgin kızarıklık ve ödem, spontan kanamaya eğilim var, ülserasyonlar olabilir

**SK:** Periodontal sond sulkus içerisinde gezdirilip yaklaşık 20 saniye sonra incelenerek kanama var (+) ya da kanama yok (-) şeklinde tüm dişleri değerlendirildi.

**CD:** Periodontal sond yardımı ile marjinal dişeti kenarı ve sondalanabilen cep tabanı arasındaki mesafe tüm dişlerin altı yüzeyinden ölçüldü.

**KAS:** Periodontal sond yardımı ile mine-sement sınırından cep tabanına kadar olan mesafe tüm dişlerin altı yüzeyinden ölçüldü.



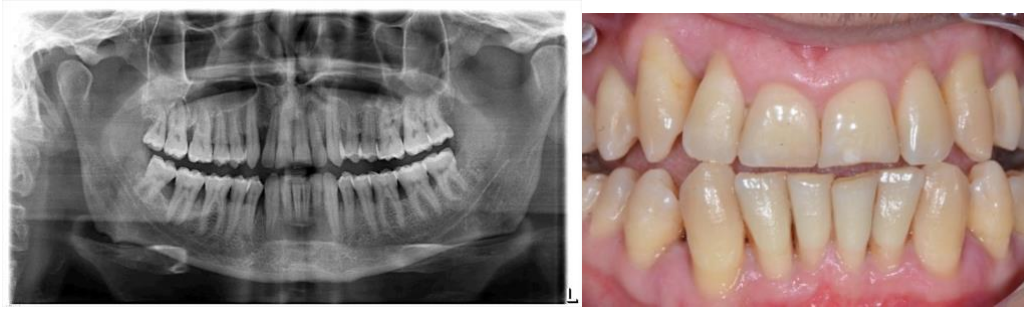
Şekil 3.1. Periodontal sonda (William's sondu, Hu-Friedy Mfg. Co., LLC, Chicago, USA)

### 3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışma popülasyonuna periodontitisli hastalar ve periodontal sağlıklı bireyler dahil edildi. Çalışma grupları aşağıdaki kriterler dikkate alınarak oluşturuldu:

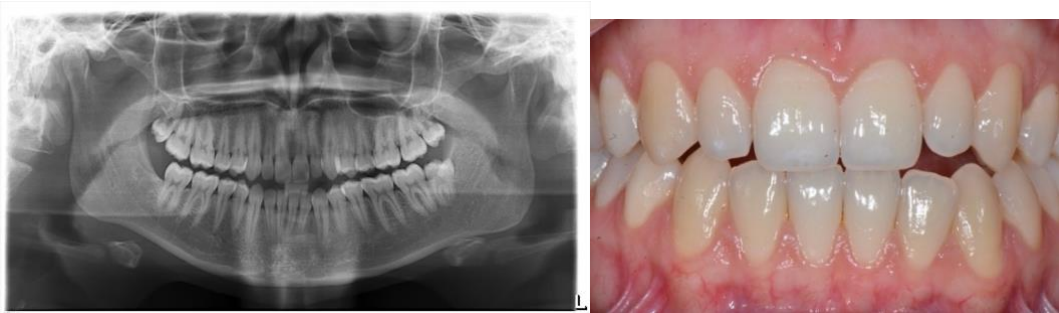
- Herhangi bir sağlık problemi olmayanlar
- Düzenli olarak ilaç kullanmayanlar
- Gebelik veya emzirme döneminde olmayanlar
- Sigara kullanmayan veya madde bağımlısı olmayanlar
- İşbirliği iyi olanlar
- Onsekiz yaş üstü bireyler
- Bireyler arasında akrabalık bağı bulunmaması
- Cinsiyet dağılımının mümkün olduğunca eşit olması

**Periodontitis grubu:** Bu gruba, komşu olmayan  $\geq 2$  dişte interdenal bölgede KAS  $\geq 5$  mm ve CD  $> 6$  mm ile birlikte bukkal/lingual bölgede bu değerleri  $\geq 5$  mm olan hastalar dahil edildi. Bu kriterlere ek olarak kök yüzeyinin orta kısmına veya apikal üçlüsüne kadar uzanan kemikiçi defektleri, furkasyon tutulumu (sınıf II ve III), periodontal kaynaklı diş kayıpları ve lokalize kret defektleri, % kemik kaybı-yaş oranı  $> 0.25$  olan ve mevcut biyofilm miktarına göre doku yıkımı orantılı veya fazla olan durumlar da dikkate alındı. Bu şekilde grup generalize veya lokalize, evre III-IV ve derece B-C periodontitis hastalarından oluşturuldu (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Periodontitis grubundaki bir hastanın radyografik ve ağız içi görüntüsü

**Kontrol grubu:** Kontrol grubu, intakt periodonsiyuma sahip bireylerde tüm-ağız için GI  $> 0$   $< \% 10$ , SK (+)  $< \% 10$ , CD  $\leq 3$  mm, KAS  $\leq 3$  mm değerlerine sahip, herhangi bir patolojik durum ve kemik kaybı saptanmayan ve daha önce periodontal tedavi görmemiş bireylerden oluşturuldu (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kontrol grubundaki bir hastanın radyografik ve ağız içi görüntüsü

Her iki grubun tüm-ağız klinik verileri çalışma parametreleri olarak kullanılmak üzere kaydedildi.

### 3.3. Kan Örneklerinin Alınması

Çalışma grubundaki her bireyden *CGRP* geni -624(T/C)/-590(C/G) promotor bölge polimorfizmlerinin incelenmesi için, 2 ml periferik kan örneği EDTA içeren vakumlu tüplere alındı. Bu örnekler DNA izolasyonu yapılmak üzere buzdolabında muhafaza edildi. DNA izolasyon işlemi kan örnekleri dondurulmadan aynı günde

yapıldı.

### 3.4. DNA İzolasyonu

Genomik DNA standart yöntemler ile DNA izolasyon kiti (ROCHE High Pure PCR Template Preparation kit, F. Hoffmann-La Roche Ltd, Vienna, Austria) kullanılarak izole edildi.

DNA izolasyonu şu protokolle yapıldı:

- 1- Her bir örneğe ait kan tüpünden 200 µl kan pipetaj yapılarak steril eppendorf tüpe aktarıldı
- 2- Her tüpe 200 µl “binding buffer” konuldu ve pipetaj yapıldı
- 3- Her tüpe 40 µl proteinaz K konuldu ve 10 saniye vortekslenerek iyice karıştırıldı
- 4- Tüpler kuru bloklarda 70°C’de 10 dakika inkübe edildi. Her tüp için 100 µl “elution buffer” eppendorf tüpe aktarıldı ve yine kuru blokta 70°C’de bekletildi
- 5- Her bir örnek için filtre içeren kolon ve toplama tüpü hazırlandı ve etiketlendi
- 6- Kuru bloktan alınan tüplere 100 µl izopropanol eklendi ve pipetaj yapılarak karışımın tamamı filtreli tüplere aktarıldı (yaklaşık 700 µl)
- 7- Tüpler 8000 “relative centrifugal force” (rcf)’de 1 dakika santrifüjlendi
- 8- Toplama tüpleri değiştirilerek her tüpe 500 µl “inhibitor removal buffer” eklendi
- 9- Tüpler 8000 rcf’de 1 dakika santrifüjlendi
- 10- Toplama tüpleri değiştirilerek 500 µl “washing buffer” konuldu
- 11- Tüpler 8000 rcf’de 1 dakika santrifüjlendi
- 12- Toplama tüpleri değiştirilerek tekrar 500 µl “washing buffer” konuldu
- 13- Tüpler 8000 rcf’de 1 dakika santrifüjlendi
- 14- Toplama tüpleri değiştirilerek maksimum hızda 10 saniye santrifüjlendi
- 15- Filtreler toplama tüplerinden ayrılarak toplama tüpleri atıldı. Filtreler önceden etiketlenmiş 1.5’lik steril eppendorf tüplere yerleştirildi
- 16- Filtrelerin ortasına gelecek şekilde her bir tüpe 100 µl ısıtılmış “elution buffer” eklendi ve 10 saniye oda sıcaklığında inkübe edildi
- 17- 8000 rcf’de 1 dakika santrifüjlendi
- 18- Filtreler atıldı, eppendorf tüplerin kapağı sıkıca kapatıldı ve parafinlenerek

hemen kullanıcaksa + 4°C'ye buzdolabına, daha sonra kullanılacaksa - 20C'ye dondurucuya kaldırıldı

İzolasyonu yapılan örnekler “Thermo Scientific Nanodrop 2000” (Fisher Scientific Co. LLC., Pittsburgh, ABD) kullanılarak konsantrasyon ve saflık dereceleri ölçüldü (Şekil 3.4). Saflık derecesi yeterli olan her örnekten Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) kuruldu.



Şekil 3.4. Thermo Scientific Nanodrop 2000

### 3.5. Primer Dizaynı ve PCR

*CGRP* geni promotor bölgesinde bulunan polimorfik iki bölge için Genbank X15943.1 dizisi kullanıldı. Bu iki bölgenin birbirine uzaklığı sadece 34 bp olduğu için her iki bölgeyi de içeren bir primer çifti (307 bp uzunluğunda) tasarlandı. Primer dizaynı, “NCBI PRIMER BLAST” kullanılarak yapıldı (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primerblast>). Primer dizileri şu şekildedir oluştu:

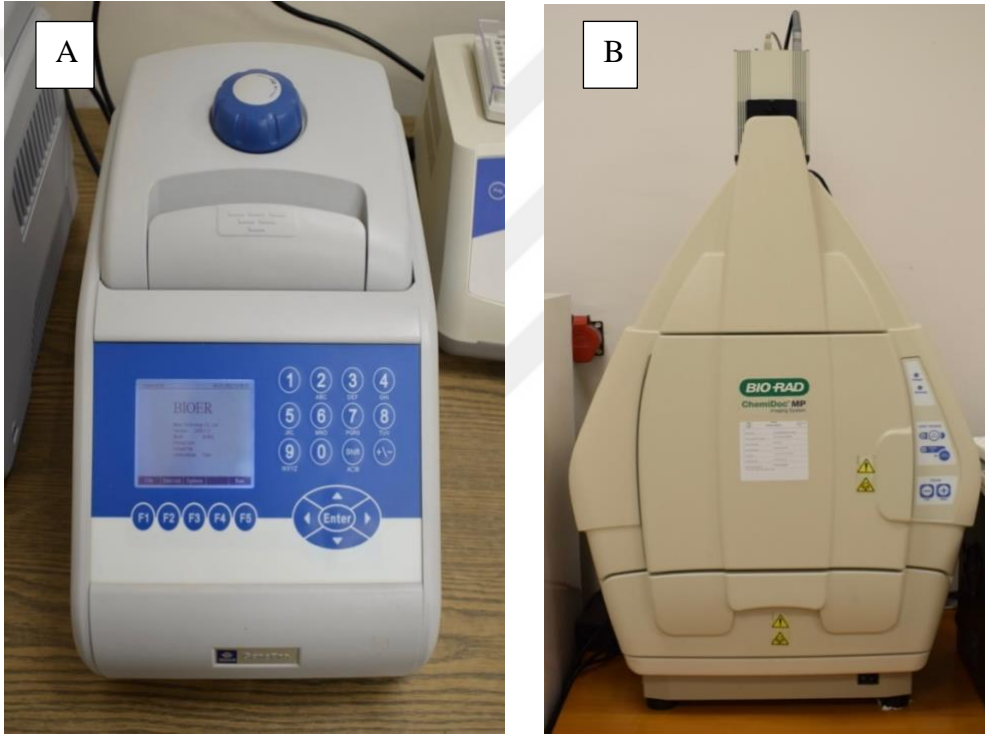
“Forward primer”: 5'-CTGAAGAGTACCCCGGGACAG-3'

“Revers primer”: 5'-GCTCGTGGGAAACAAGAGACG-3'

Reaksiyonlar, “Thermo Scientific Master mix (2x)” kullanılarak ve her bir örnek için toplam hacim 25 µl olacak şekilde yapıldı. Reaksiyon karışımları “Thermo

master mix.” 12.5 µl, “F primer” 0.5 µl, “R primer” 0.5 µl, DNA 2 µl ve su 9.5 µl olarak hazırlandı ve “Bioer Genepro Thermal Cycler” (Hangzhou Bioer Technology Co., Ltd., Zhejiang, China) içerisine yerleştirilerek PCR reaksiyonları gerçekleştirildi (Şekil 3.5). PCR koşulları; 95°C 3 dakika denatürasyon, 95°C’de 30 saniye/58°C’de 30 saniye/72°C’de 1 dakikalık 40 döngü ve 72°C’de 15 dakika uzama şeklinde oluştu.

PCR sonrasında elde edilen ürünler Biorad® marka yatay elektroforez (Bio-Rad Laboratories, Inc., California, USA) kullanılarak %1’lik agaroz jelde 90 voltta 90 dakika yürütüldü. PCR ürünlerine ait spesifik bantlar görüntüleme cihazı (Biorad® Chemidoc, Bio-Rad Laboratories, Inc., California, USA) yardımıyla görüntülendi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. A: Bioer Genepro thermal cycler, B: Biorad Chemidoc

### 3.6. Sanger Dizileme Yöntemi

Sanger dizileme yöntemi için öncelikle, PCR ürünleri enzimatik saflaştırma kiti (CleanSeq, Beckman Coulter, Inc., Indianapolis, USA) yardımıyla saflaştırma işlemi yapılarak artık primerler ve nükleotidler ayrıştırıldı. Saflaştırma işlemi için 7 µl PCR ürüne 2 µl “cleanseq” reaktifi eklendi. Toplam 9 µl karışım 37°C’de 30 dakika inkübe edildi. Sonrasında “cleanseq” reaktifini inaktive etmek için 80°C’de 15 dakika inkübe edildi. Saflaştırılmış PCR ürünleri sanger dizileme için sekans reaksiyonuna tabi tutuldu. Reaksiyon toplam hacmi 10 µl olacak şekilde 1 µl “big dye”, 2 µl 5x

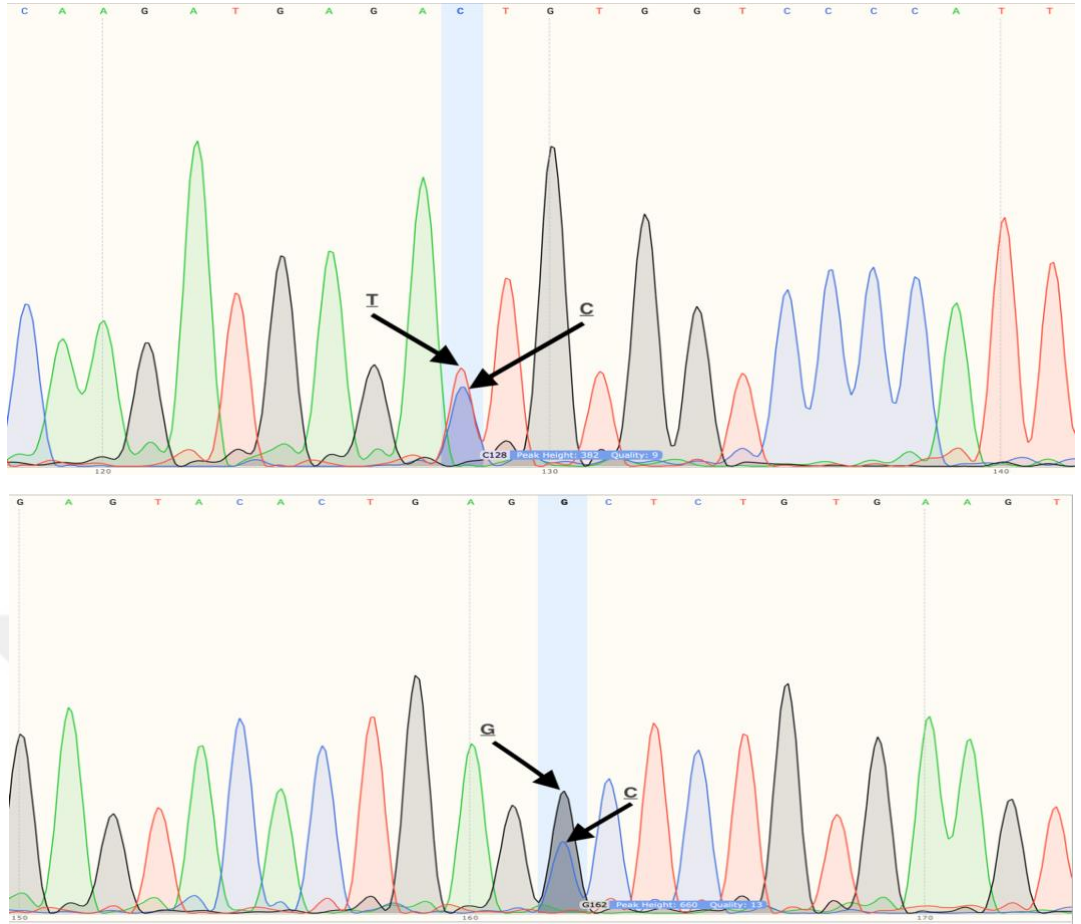
“buffer”, 0.5 µl “F primer”, 2 µl saflaştırılmış PCR ürünü ve 4.5 µl su şeklinde hazırlandı ve “thermal cyler” içerisinde sekans reaksiyonuna tabi tutuldu. PCR programı 96°C’de 1 dakika denatürasyon, 96°C’de 10 saniye/50°C’de 5 saniye/60°C’de 4 dakikalık 25 döngü şeklinde gerçekleşti.

Reaksiyon sonrasında artık PCR ürünlerinden arındırma için “magnetic bead” kullanılarak ikinci bir saflaştırma işlemi daha uygulandı. Bunun için örnekler “plate” içine yerleştirilerek her bir örnek toplam hacmi üzerine 10 µl “magnetic bead” çözeltisi ve 42 µl %85’lik alkol çözeltisi eklenerek vortekslendi ve magnetik stand üzerine yerleştirildi. Dört dakika bekletildikten sonra berrak hale gelen supernatant uzaklaştırılarak üzerine 150 µl %85’lik alkol çözeltisi eklendi ve 30 saniye bekletildikten sonra alkol uzaklaştırıldı. Bu şekildeki alkolle yıkama işlemi bir kez daha tekrarlandı. Sonrasında “plate” manyetik stand üzerinden alınarak her bir örnek 50 µl su ile çözdürüldü ve “plate” tekrar magnetik standı üzerine yerleştirildi. Dört dakika bekletildikten sonra her bir örnek steril bir PCR tüpüne konuldu.

Sonrasında örnekler ABI 310 genetik analiz cihazına (Applied Biosystems, Inc., California, USA) yüklenerek tek yönlü dizileme işlemi yapıldı (Şekil 3.6). Elde edilen diziler Snappene viewer 6.0.5 kullanılarak görüntülendi ve polimorfik bölgelerdeki baz değişimleri tespit edildi (Şekil 3.7).



Şekil 3.6. ABI 310 genetik analiz cihazı



Şekil 3.7. CGRP -624 (T/C) /-590 (C/G) polimorfik bölgeleri

### 3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda örnek sayısının uygunluğu için güç analizi (Openepi Version 3.01, Epidemiologic Statistics For Public Health. Dean et al., 2013) kullanarak daha önce yapılmış benzer bir çalışmaya göre (Sumer vd., 2007), %95 güven aralığında %5 duyarlılığa sahip olacak şekilde minimum örnek sayısı tespit edildi. Elde edilen klinik ve laboratuvar verilerin incelenmesi için SPSS 21 (International Business Machines Co., Armonk, USA) veri analiz programı kullanıldı ve istatistiksel anlamlılık sınırı  $p < 0.05$  olarak belirlendi. Hasta ve Kontrol grubu arasında yaş, Pİ, Gİ ve SK parametrelerinin karşılaştırması *Mann-Whitney* testi ile; CD ve KAS parametrelerinin ise *Bağımsız t grup* testi ile yapıldı. Ayrıca cinsiyet, genotip ve alel frekansların karşılaştırılması için *Ki-Kare* analizi kullanıldı. Genotipler ve klinik parametrelerin arasındaki farkları ortaya çıkarmak için tek yönlü *ANOVA* ve *Kruskal-Wallis* testi yapıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Bulgular

Çalışmamız, güç analizi sonucu her grup için en az 30 kişilik bir popülasyon sayısı çıkmasına rağmen, 50 Periodontitis ve 50 Kontrol grubu olmak üzere toplam 100 (55 kadın, 45 erkek) bireyin katılımı ile gerçekleştirildi. Periodontitis grubu 30 kadın ve 20 erkek, Kontrol grubu ise 25 kadın ve 25 erkekten oluştu. Gruplar arasındaki cinsiyet dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya çıkmadı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Periodontitis ve Kontrol grubunda cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Periodontitis Grubu		Kontrol Grubu		p*
	(n= 50)	%	(n= 50)	%	
<b>Kadın</b>	30	60	25	50	
<b>Erkek</b>	20	40	25	50	
<b>TOPLAM</b>	50		50		0.317

\*: *ki-kare* testi

Periodontitis grubunda yaş aralığı 26-68 ve yaş ortalaması  $43.62 \pm 11.308$  olarak tespit edildi. Kontrol grubunda ise yaş aralığı 22-57 ve yaş ortalaması  $35.5 \pm 10.037$  olarak belirlendi. İki grubun yaş ortalaması istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Periodontitis ve Kontrol grubunda yaş dağılımı

	Periodontitis grubu (n= 50)	Kontrol grubu (n= 50)	p*
<b>Yaş ortalaması<math>\pm</math>SS</b>	$43.62 \pm 11.308$	$35.3 \pm 10.037$	<b>P&lt;0.001</b>
<b>Yaş aralığı</b>	26-68	22-57	

\*: *Bağımsız grup t* testi, SS: standard sapma

### 4.2. Klinik Bulgular

Periodontitis ve Kontrol grubu arasında tüm klinik parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya çıktı. Pİ, Gİ, SK, CD ve KAS değerleri Periodontitis grubunda Kontrol grubundan daha yüksek düzeyde tespit edildi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Periodontitis ve Kontrol grubunda klinik bulgular

Klinik Parametreler	Periodontitis grubu (n= 50) Ortalama ±SS	Kontrol grubu (n= 50) Ortalama ±SS	p*
Pİ	1.323 ±0.647	0.322 ±0.444	0.001
Gİ	1.692 ±0.594	0.411 ±0.478	0.001
SK	0.505 ±0.272	0.041 ±0.037	0.001
CD	3.868 ±1.230	1.680 ±0.643	0.001
KAS	4.380 ±1.212	1.696 ±0.725	0.001

\*: Bağımsız grup t testi, SS: standard sapma (Pİ, Gİ ve SK değerleri için Mann-Whitney testi yapıldı)

### 4.3. Laboratuvar Bulguları

Periodontitis ve Kontrol grubu arasında *CGRP* geni -624 (T/C) TT, CT, CC genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. TT dağılımı Periodontitis grubunda %42, Kontrol grubunda %60; CT genotipi Periodontitis grubunda %46, Kontrol grubunda %34; CC genotipi ise Periodontitis grubunda %12 ve Kontrol grubunda %6 olarak tespit edildi. *CGRP* geni -624 (T/C) T alel sıklığı Periodontitis grubunda 0.65, Kontrol grubunda 0.77 olarak tespit edildi. C alel sıklığı Periodontitis grubunda 0.35, Kontrol grubunda 0.23 olarak bulundu. Gruplar arasında alel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. *CGRP* -624 (T/C) gen polimorfizmi, genotip ve alel frekansları

Genotip Alel	Periodontitis grubu (n=50)		Kontrol grubu (n=50)		$\chi^2$	p*	OR (95 %CI)
Genotip	n	%	n	%			
TT	21	42	30	60	$\chi^2= 3.488$	p= 0.175	
CT	23	46	17	34			
CC	6	12	3	6			
TT+CT:CC	44:6		47:3			p=0.296	0.471
TT:CT+CC	21:29		30:20			p=0.109	0.486
Toplam	50	100	50	100			
Alel	n	%	n	%			
T	65	65	77	77	$\chi^2= 3.497$	p= 0.0614	1.803 (0.96-3.35)
C	35	35	23	23			

\*: ki-kare testi

Periodontitis ve Kontrol grubu *CGRP* geni -590 (C/G) CC, GC, GG genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. CC dağılımı Periodontitis grubunda %42, Kontrol grubunda %60; GC genotipi Periodontitis grubunda %46, Kontrol grubunda %34; GG genotipi ise Periodontitis grubunda %12 ve Kontrol grubunda %6 olarak tespit edildi. *CGRP* geni -590 (C/G) C alel sıklığı Periodontitis grubunda 0.65, Kontrol grubunda 0.77 olarak tespit edildi. G alel sıklığı Periodontitis grubunda 0.35, Kontrol grubunda 0.23 olarak bulundu. Gruplar arasında alel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. *CGRP* geni -590 (C/G) gen polimorfizmi, genotip ve alel frekansları

Genotip Alel	Periodontitis grubu (n=50)		Kontrol grubu (n=50)		$\chi^2$	$p^*$	OR (95 %CI)
	n	%	n	%			
Genotip	n	%	n	%			
CC	21	42	30	60	$\chi^2 = 3.488$	$p = 0.175$	
GC	23	46	17	34			
GG	6	12	3	6			
CC+GC:GG	44:6		47:3			$p = 0.296$	0.471
CC:GC+GG	21:29		30:20			$p = 0.109$	0.486
Toplam	50	100	50	100			
Alel	n	%	n	%			
C	65	65	77	77	$\chi^2 = 3.497$	$p = 0.0614$	1.803 (0.96-3.35)
G	35	35	23	23			

\*: *ki-kare* testi

Klinik parametreler ve laboratuvar verileri arasındaki ilişki Pİ, Gİ, SK, CD ve KAS ile çalışma gruplarının genotipleri için ayrı ayrı değerlendirildi. Bu anlamda klinik parametreler ile genotipler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Klinik parametreler ve genotipler arasındaki ilişki

Klinik parametreler $\pm$ SS	CGRP -624/-590 gen polimorfizmi			$p^*$	
	Homozigot	Heterozigot	Yabanıl tip		
Pİ	Periodontitis	1.05 $\pm$ 0.375	1.353 $\pm$ 0.535	1.453 $\pm$ 0.226	$p = 0.471$
	Kontrol	0 $\pm$ 0	0.375 $\pm$ 0.25	0.337 $\pm$ 0.187	$p = 0.368$
Gİ	Periodontitis	1.513 $\pm$ 0.309	1.742 $\pm$ 0.4	1.688 $\pm$ 0.336	$p = 0.711$
	Kontrol	0 $\pm$ 0	0.456 $\pm$ 0.255	0.440 $\pm$ 0.238	$p = 0.186$
SK	Periodontitis	0.453 $\pm$ 0.0629	0.527 $\pm$ 0.069	0.496 $\pm$ 0.0888	$p = 0.827$
	Kontrol	0.035 $\pm$ 0.0017	0.0407 $\pm$ 0.0012	0.0450 $\pm$ 0.00157	$p = 0.472$
CD	Periodontitis	3.325 $\pm$ 0.9	4.162 $\pm$ 1.706	3.680 $\pm$ 1.443	$p = 0.211$
	Kontrol	1.545 $\pm$ 0.672	1.757 $\pm$ 0.372	1.657 $\pm$ 0.431	$p = 0.363$
KAS	Periodontitis	3.596 $\pm$ 0.665	4.768 $\pm$ 1.497	4.179 $\pm$ 1.384	$p = 0.063$
	Kontrol	1.667 $\pm$ 0.786	1.794 $\pm$ 0.574	1.655 $\pm$ 0.487	$p = 0.564$

\* $p$ : Tek yönlü Anova ve Kruskal-Wallis testi

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, *CGRP* geni promotor bölgesindeki -624 (T/C)/-590 (C/G) polimorfizmleri ve periodontitisle olası ilişkisi araştırılmış, bu bölgelerde polimorfizm varlığında periodontal hastalığa yatkınlıktaki rolü ele alınmıştır. Literatür bu anlamda incelendiğinde ve kapsamlı bir literatür taraması yapıldığında, *CGRP* -gen polimorfizmi ve periodontitis ilişkisi ile ilgili yeterli veri olmadığı görülmektedir. Bu nedenle araştırmamız, konuyla ilgili veri ve bulgu sunan öncü çalışmalardan biri olmuştur.

Periodontitis bakteri plağı, konağın immün yanıtı, genetik ve çevresel faktörlerin karmaşık etkileriyle ortaya çıkan multifaktoriyel enflamatuvar bir hastalık olarak tanımlanabilir. Ancak, hem patogenezi hem patolojisi hem de seyri oldukça karmaşık bir hastalık olarak da değerlendirilebilir. Benzer bir tanımlama yapılabilecek bazı hastalıklar (örn.: Alzheimer hastalığı, Crohn hastalığı ve kardiyovasküler hastalıklar) incelendiğinde, hepsinin ortak özelliğinin çoğunlukla hafif bir fenotiple ortaya çıkmaları, doğaları gereği yavaş ilerlemeleri ve kronik seyir izlemeleri olduğu söylenebilir (Tabor et al., 2002). Bu karmaşıklığa neden olan veya yol açan en önemli faktör ise poligenik özelliklerinin olması yani, hastalığın başlaması ve sürecinin şekillenmesinde büyük bir rolü olan genetik varyasyonlardan kaynaklanan risk faktörlerinin olmasıdır (Tabor et al., 2002).

Genetik faktörlerinin periodontitisin doğal seyrini etkilediği bilinmektedir (Michalowicz et al., 1991; Hart, 1994; Hart and Kornman, 1997; Hart et al., 1997; Page and Sturdivant, 2002). Bireyin genetik yapısı, hem periodontal hastalığın enflamatuvar sürecinde oluşan immün yanıtın hem de bu süreçte düzenleyici rolü olan mediatörlerin düzenlenmesinden ve aktive edilmesinden sorumludur. DNA yapısında oluşan hasarlar ve ortaya çıkan farklılıklar, immün yanıtı etkiler ve salınan mediatörlerin miktarında ve yapısında değişikliklere yol açar ve bu durum, periodontal enflamatuvar sürece olan etkisinden dolayı hastalığa yatkınlığa sebep olabilir. Spesifik olarak, farklı gen formları (alelik varyantlar) doku yapısında (doğuştan gelen bağışıklık), antikor yanıtlarında (adaptif bağışıklık) ve enflamatuvar mediatörlerde (spesifik olmayan enflamasyon) varyasyonlar üretebilir (Kinane ve Hart, 2003). Birden fazla farklı gen lokusundaki alelik varyantlar muhtemelen periodontitis duyarlılığını etkiler. Bu genetik varyantların bazılarının etkileri büyük ve klinik olarak öneme sahip olabilirken, bazılarının etkileri önemsiz kalır ve klinik olarak anlamlı

yansımaları olmaz. Genetik değişkenliğin periodontitis ile potansiyel klinik ilişkisini anlamak için, farklı genlerin hastalığa nasıl katkıda bulunabileceğini anlamamız gerekir (Kinane and Hart, 2003).

Bir genin farklı formları alelik varyantlar veya aleller olarak adlandırılır. Bir genin alelik varyantları nükleotid dizilerinde farklılık gösterir. Belirli bir alel, popülasyonun en az %1'inde meydana geldiğinde, bunun bir genetik polimorfizm olduğu söylenir. Çoğu alelik varyant, dört nükleotidde (A, T, C, G) birinden diğerine bir değişiklik içerir. Bazı alelik varyantlar, genlerin protein ürünlerinin amino asit bileşimini değiştirir. Bir proteinin amino asit bileşimini değiştiren nükleotid değişiklikleri işlevsiz bir protein üretimi ile sonuçlanabilir veya değişiklik daha makul düzeyde olabilir. İkinci durumda, protein işlevi biraz değişebilir. Sonuç olarak, farklı alellerin spesifik protein ürünleri farklı düzeyde işlev görür. Farklı proteinlerin fizyolojik işleyişindeki bu farklılıklar, belirli çevresel faktörler (örn.: diyet, sigara, mikrobiyal faktörler) tarafından artırılabilir. Etkilenen protein bir biyolojik süreçte görev yapıyorsa (örn.: belirli bir mikrobiyal ajana karşı enflamatuvar yanıtta) belirli polimorfizmler bir kişinin hastalık fenotipi riskini artırabilir veya azaltabilir.

CGRP güçlü bir vazodilatör ve anti-enflamatuvardır. Bu nöropeptid, periodontitis sürecinde nötrofillerin IL-1'e bağlı olarak ortamda agregasyonunu artırır ve T-hücrelerinden sitokin salgılanmasının artışına neden olur (Buckley et al., 1991; Levite, 1998). CGRP, vasküler tonus ve anjiyogenezin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Bununla birlikte merkezi sinir sisteminde motor, duyuşal ve bütünleştirici sistemler gibi çeşitli işlevlerde rolü vardır (Alkanlı vd., 2018). Dolayısı ile bu mediatörü kodlayan gende oluşan polimorfizimler birçok araştırma ve bilimsel çalışmaya konu olmuştur.

Bizim çalışmamızda, periodontal hastalığın genetik mekanizmalarının daha detaylı araştırılması, *CGRP* gen polimorfizminin periodontitis ile ilişkisinin tespit edilmesi, genotip-fenotip arasındaki ilişkinin incelenmesi ve bu polimorfizmin periodontal hastalığa etkisinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Günümüze kadar periodontitis ile ilgili farklı gen polimorfizm çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda daha çok sitokin geni, immüno-reseptör geni, metabolizma ve antijenin tanınması ile ilişkili genler ve bunların polimorfizmleri ile ilgili incelemeler ön plana çıkmıştır. Yapılan pek çok çalışma konak cevabını etkileyen proteinleri kodlayan genler üzerine yoğunlaşılmıştır (Greenstein and Hart, 2002; Kinane et al., 2005).

2017 yılına kadar kullanılan periodontal hastalık sınıflamasına göre yapılan çalışmalar, periodontitisin agresif veya kronik olarak tanımlanmasını temel olarak dizayn edilmiştir. Buna göre kronik periodontitis aksine agresif periodontitis, spesifik veya basit ailesel geçiş ortaya koyabilen bir antite olarak tanımlanmıştır. Dolayısıyla birçok araştırmada, hastalığın genetik yönü bariz bir şekilde ortaya çıkmıştır. Bunun yanı sıra diyet, sigara kullanımı, çevresel faktörler, sosyo-ekonomik ve sistemik durumun da hastalık patogenezi ve patolojisinde rolü olduğu bildirilmiştir (Boughman et al., 1992). Agresif periodontitis, hızlı ataçman ve alveol kemik kayıplarıyla karakterizedir, bu durumu göz önünde bulundurarak, 2017 periodontal hastalık sınıflanmasına göre hızlı ataçman ve alveol kaybı olan hastaları çalışmaya dahil ettik. Genetik polimorfizmlerin periodontitisle olan ilişkisini inceleyen çalışmalar, polimorfizme ait genotip ve alel frekansı değerlendirmelerinde farklı sonuçların ortaya çıkmasının ırk, etnisite ve cinsiyet farklılıklardan kaynaklanabileceğini ortaya koymuştur. Başka bir etken de yapılan çalışmalarda periodontal hastalığın tanımlanmasında ve teşhisinde kullanılan kriterlerdir, bu durum çalışma ve kontrol gruplarını oluştururken yapılan araştırmalar arasında farklılıklara neden olabilir (McGuire and Nunn, 1996; McDevit et al., 2000; Greenstein and Hart, 2002; Kinane and Hart, 2003). Bizim çalışmamızda, çalışma grupları oluşturulurken bu durumlar dikkate alındı ve 2017 yılında yapılan periodontal ve periimplant hastalıklar ve durumların sınıflamasına göre hızlı ve ileri kemik kaybı olan bireyler hasta grubuna dahil edildi (generalize veya lokalize, evre III-IV ve derece B-C).

Periodontitis multifaktoriyel bir hastalık olarak kabul edilir. Sigara, çevresel faktörler, diyabet ve diğer sistemik hastalıklar periodontitisin görülme sıklığında önemli rol oynar. Bu nedenle söz konusu durumlar genetik çalışmaların sonucunu gölgeleyebilir. Genetik çalışmalarda bu sınırlamalar yorumlama ve değerlendirme aşamasında dikkate alınmalıdır (Potter, 1990; Schenkein, 2002). Araştırmamızda, hasta ve kontrol gruplarını oluştururken buna dikkat edilerek, sigara kullanmayan ve herhangi bir sistemik hastalığı olmayan bireyler çalışmaya dahil edildi. DNA’da yaşla birlikte polimorfizm sıklığı ve ortaya çıkması açısından değişim olmadığı görülmüştür (Hodge et al., 2001); bununla birlikte, periodontitisin görülme sıklığında yaşla birlikte artış da vardır (Kinane et al., 2006). Bundan dolayı çalışmamızda, hataları önlemek adına bireylerin yaş ortalamaları benzer olarak seçildi. Aynı zamanda hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımının eşit oranda yapılmasına özen gösterildi.













































## ÖZ GEÇMİŞ

Amir Masoud BOZORGİ, Tebriz, Amirülmüminin Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi bölümünden 21.11.2017 tarihinde mezun oldu. 2017 yılında OMÜ LEE Periodontoloji Ana Bilim Dalı Doktora programına başladı. Amir Masoud BOZORGİ, iyi derecede İngilizce/ Azerice/ Farsça bilmektedir. Temel ilgi alanları, genetik polimorfizm çalışmalarıdır (23.12.2022).

### İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-8138-5058

### Yayınlar:

1. Bozorgi, A. M., Otan-Özden, F. (2022). İleri periodontitis ve ABO kan grupları arasındaki ilişki. *Türk Diş Hekimliği Araştırma Dergisi*, 1(2), 45-52.
2. Bozorgi, A. M., Otan-Özden, F. (2022). Diş hekimliği öğrencilerinde eğitim sürecinin oral hijyen alışkanlıkları ve ağız diş sağlığı farkındalıklarına etkisi. *Türk Diş Hekimliği Araştırma Dergisi*, 1(2), 59-67.