

**T.C.
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI**

**ORTODONTİK SABİT MEKANİK KULLANAN HASTALARDA
NLRC4 İNFLAMAZOM YOLAĞI GEN EKSPRESYON
DÜZEYLERİNİN PROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Berşan KARADEDE

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. İlknur VELİ**

**İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Afig BERDELİ**

2021 – İZMİR

**T.C.
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI**

**ORTODONTİK SABİT MEKANİK KULLANAN HASTALARDA
NLRC4 İNFLAMAZOM YOLAĞI GEN EKSPRESYON
DÜZEYLERİNİN PROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Berşan KARADEDE

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. İlknur VELİ**

**İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Afig BERDELİ**

Bu tez, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje koordinatörlüğü tarafından 2020-TDR-SABE-0009 proje numarası ile desteklenmiştir.

2021-İZMİR

KABUL VE ONAY

İKÇÜ Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ortodonti Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26.04.2021

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İlknur VELİ
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD

Üye: Prof. Dr. A. Alev ÇİNSAR
Ege Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD

Üye: Doç. Dr. T. Hakan Bulut
Ege Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD

Üye: Dr. Öğrt. Üyesi Dr. Mehmet Doğru
Dicle Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD

Üye: Dr. Öğrt. Üyesi Dr. Burçin AKAN
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD

ONAY: Bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'na belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet KOYU

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin / raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini İzmir Katip Çelebi Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

o Tezimin / Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

(Bu seçenekte teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)

• Tezimin / Raporumun ... tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç).

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde tezimin / raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)

o Tezimin / Raporumun . . . tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

o Serbest Seçenek / Yazarın Seçimi.

Berşan KARADEDE

26.04.2021

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, tez danışmanlarım Doç. Dr. İlknur VELİ ve Prof. Dr. Afıg BERDELİ danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve “İzmir Kâtip elebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu” na göre yazıldığını beyan ederim.

Berşan KARADEDE
26.04.2021

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve tez çalışmamda bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, çalışma disiplini, desteği ve sevgisi ile beni aydınlatan, yardım ve desteğini esirgemeyen, tez danışmanım ve sevgili hocam, Doç. Dr. İlknur VELİ'ye;

Genetik alanında ve laboratuvar analizleri aşamasındaki çok değerli katkı, yardım ve desteklerinden dolayı yardımcı danışmanım Prof. Dr. Afif BERDELİ 'ye;

İstatistik alanında önemli emeğinden dolayı Doç. Dr. M. Ağah TEKİNDAL'a,

Doktora eğitimime katkılarından dolayı değerli hocalarım Doç. Dr. Aslı BAYSAL, Dr. Öğrt. Üyesi Burçin AKAN, Dr. Öğrt. Üyesi Gökçenur GÖKÇE'ye,

Doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, çalışma düzeni ve mesleğine olan sevgisi ile beni aydınlatan, hiçbir yardım ve desteğini esirgemeyen, vicdanı, iyilik ve merhamet dolu kalbi, durmak bilmeyen başarı azmi ile gelecekte olmak istediğim ve her gün bu ideal için adım adım çalıştığım kişinin temellerini atan, her zaman yanımda olduğunu bildiğim, ayrıca bana bu çalışma konusunu ve metodolojisini vererek kendimi geliştirmemde büyük katkısı olan başta kıymetli hocam ve sevgili babam Prof. Dr. Dr. Mehmet İrfan KARADEDE 'ye; tezime olan katkıları ile başarı, bilgi, emeği ve anlayışıyla bana ışık tutan sevgili ablam Dr. Öğrt. Üyesi Dr. Dr. Beyza KARADEDE ÜNAL'a,

Bugünlere gelmemi sağlayan, benden önce bana güvenen, elimi hiçbir zaman bırakmayan, hayatımın her döneminde desteğini hep yanımda hissettiğim kıymetli annem Gülsen KARADEDE 'ye,

İKÇÜ BAP koordinatörlüğünce (2020-TDR-SABE-0009) verilen desteğe,

SONSUZ TEŞEKKÜR EDERİM

Dt. Berşan KARADEDE
26.04.2021

ÖZET

ORTODONTİK SABİT MEKANİK KULLANAN HASTALARDA NLRC4 İNFLAMAZOM YOLAĞI GEN EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN PROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI

Berşan Karadede, İKÇÜ SBE Ortodonti Programı Doktora Tezi, İzmir, 2021.

Amaç: Bu çalışmada, NLRC4 inflamazom yolağı gen ekspresyon düzeylerinin prospektif olarak araştırılması hedeflenerek, ortodontik sabit tedavi materyallerinin, hastaların ağızda oluşabilen enflamasyon üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'na başvurmuş, ortodontik tedavi ihtiyacı olan “gönüllü onam formu” alınmış 12-17 yaş aralığında, toplam 79 birey dahil edilmiştir. Bireylerden 0., 30. ve 180. günlerde alınan genetik materyal örneklerinin “Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Moleküler Tıp Araştırma Merkezi'nde analizleri yapılmıştır. NLRC4 geni için 9 ekzonun ayrı ayrı Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) amplifikasyonu, EXO-SAP enzimatik saflaştırma sonrası cycle sequencing PCR yapılarak Sanger DNA dizileme yöntemiyle nükleotid yapısı okunarak DNA varyantları tespit edilmiştir. RNA örneklerine cDNA sentezi yapıldıktan sonra TaqMan RT PCR kiti ve NLRC4 primer-probu kullanılarak ABI 7700 real time cihazında yapılmıştır.

Bulgular: ACTB ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır ($p<0,05$). Zamana bağlı ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) real time data örnekler arasında istatistik olarak anlamlı farklılık vardır. 0. gün ile 30. gün, 0. gün ile 180. gün, 30. gün ile 180. gün arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. 30. gün 0. günden 7 kat (fold change) daha fazla real time ortalaması içermektedir. 180. gün 0. günden 14 kat daha fazla real time ortalaması içermektedir. 180. gün 30. günden 2 kat daha fazla real time ortalaması içermektedir.

Sonuç olarak, ortodontik sabit mekaniklerinin, NLRC4 inflamazom yolağı gen ekspresyon düzeylerini etkilediği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: İnflamazom, Enflamasyon, Genetik, NLRC4, Korozyon, İmmün Sistem, Ortodonti, Sabit Mekanikler.

Bu tez, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje koordinatörlüğü tarafından (2020-TDR-SABE-0009) desteklenmiştir.



ABSTRACT

PROSPECTIVE INVESTIGATION OF NLRC4 INFLAMMASOMA PATHWAY GENE EXPRESSION LEVELS IN PATIENTS USING ORTHODONTIC FIXED MECHANICS

**Berşan Karadede, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Health Sciences Institute
Orthodontic Program, Doctoral (PhD) Thesis, İzmir, 2021.**

Aim: In this study, it was aimed to investigate the effects of orthodontic fixed treatment materials on inflammation that may occur in the mouth of patients, with the aim of prospectively investigating the gene expression levels of the NLRC4 inflammasome pathway.

Materials and methods: A total of 79 individuals with “volunteer consent form” between the ages of 12-17 who needed orthodontic treatment and applied to Izmir Katip Çelebi University Faculty of Dentistry Department of Orthodontics were included in the study. The genetic material samples taken from the individuals on the 0th, 30th and 180th days were analyzed at the "Ege University Medical Faculty Molecular Medicine Research Center". For the NLRC4 gene, polymerase Chain Reaction (PCR) amplification of 9 exons separately, cycle sequencing PCR after EXO-SAP enzymatic purification was performed, and DNA variants were determined by reading the nucleotide structure with the Sanger DNA sequencing method. After cDNA synthesis was made into RNA samples, it was performed on ABI 7700 real time device using TaqMan RT PCR kit and NLRC4 primer-probe.

Results: There is a statistically significant positive correlation between ACTB measurement and NLRC4 measurement ($p < 0.05$). There is a statistically significant difference between time dependent ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) real time data samples. The difference between day 0 and day 30, day 0 and day 180, day 30 and day 180 is statistically significant. The 30th day contains 7 times (fold change) more real time averages than the 0th day. Day 180 contains 14 times more real time average than day 0. Day 180 contains 2 times more real time average than day 30.

As a result, it was found that the gene expression levels of NLRC4 inflammasoma pathway were affected in patients using orthodontic fixed mechanics.

Keywords: Inflammasome, Inflammation, Genetics, NLRC4, Corrosion, Immune system, Orthodontics, Fixed mechanics.

This thesis was supported by İzmir Katip Çelebi University Scientific Research Project Coordinator (2020-TDR-SABE-0009).



İÇİNDEKİLER

Tez Kabul ve Onay Belgesi	i
Yayımlama ve Fikri Mülkiyet Beyanı	ii
Etik Beyan Sayfası	iii
Teşekkür	iv
Özet	v
Abstract	vi
İçindekiler	ix
Simgeler ve kısaltmalar	xii
Şekiller	xiii
Resimler	xiv
Tablolar	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ortodonti Nedir?	4
2.2. Ortodontik Tedavi Çeşitleri Nelerdir?	4
2.3. Ortodontik Tedavide Kullanılan Tellerin Özellikleri Nelerdir?	5
2.4. Ortodontik Tedavide Kullanılan Metal Braketlerin Özellikleri	7
2.5. MBT Tekniği	8
2.5.1. MBT Sistemde Kullanılan Ark Telleri ve İçerikleri	8
2.6. Korozyon	11
2.6.1. Vücutta kullanılan metallerin lokal / sistemik yan etkileri	11
2.6.2. Ortodontik tedavide kullanılan ağız içi malzemeler ve olası etkileri	15
2.6.3. Bu konuda geliştirilen malzemelerin özellikleri	16
2.7. Enflamasyon	16
2.8. Savunma Bariyeri	18
2.9. DNA	21
2.9.1. Gen Yapısı	22

2.9.2. Gen ekspresyonu	22
2.9.3. İnflamazom ve Tipleri	24
2.9.4. NLRC4 Genetiği	27
2.9.4.1. NLRC4'ün Yapısal Özellikleri	30
2.9.4.2. NLRC4 Etki Mekanizmaları	32
2.9.4.3. Konak Savunmasında NLRC4	34
2.9.4.4. NLRC4 İnflamazomu İle İlişkili Hastalıklar	38
2.10. Tükürük	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1. Hasta Seçimi	47
3.2. Tükürük Örneği Alınması	47
3.3. Tükürükten RNA İzolasyonu	48
3.4. Değerlendirme	50
3.5. İstatistik Değerlendirmesi	52
4. BULGULAR	54
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	82
KAYNAKLAR	85
EKLER	99
Ek-1 Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Onay Belgesi	
Ek-2 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	
Ek-3 Tez Çalışması Orjinallik Raporu	
ÖZGEÇMİŞ	111

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	Adenine (Adenin)
ACTB	Beta-actin protein (Beta Actinin: House Keeping Gen)
ADP	Adenosine diphosphate
AIM2	Interferon-inducible protein (absent in melanoma 2)
ark.	arkadaşları
ASC	apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD domain adaptör
ATP	Adenozin Trifosfat
AOSD	Yetişkin Başlangıçlı Still Hastalığı
BCR	Antikor molekülü
BAP	Bilimsel Araştırma Projesi
C	Cytosine (Sitozin)
CARD	Caspase recruitment domain-containing protein (Kaspaz-Aktivasyon ve Alım Alanı)
CASP1	Kaspaz-1
cDNA	Complementary DNA
Co	Cobalt
COX2	Siklo-oksijenaz 2
CLR	Calcitonin gene-related peptide type 1 receptor
Cr	Chromium
CRP	C-Reaktif proteinleri
C-type CLR	C-tipi lektin reseptörleri
dNTP	Nucleoside triphosphate
DLC	Diamond Like Coating
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid
ESR, mm/hr	Eritrosit sedimentasyon hızı
Et al.	Et alia (ve diğerleri)
Exon	Expressed region
Exo-SAP	Exonuclease Shrimp Alkaline Phosphatase

fHLH	Hemofagositik Lenfhistiyositoza
FliC-D0 _L	Flagellin
FMF	Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı
G	Guanine (Guanin)
GWAS	Genom Çapında Birlik Çalışması
HD	Helical Domain
HEK293	Human embryonic kidney 293 cells
Het	Heterozigot
HGMD	Human Gene Mutation Database
HGMD ID	Human Gene Mutation Database Identification
HIN-200	200-amino acid motif
HMGB1	High-mobility group protein B1
HOX	Homeobox
H443	the missense mutation
kriyo-EM	Kriyojenik elektron mikroskopu
LRR	leucin rich repeat domain
g/ml	gram/mililitre
GI	Gastrointestinal
G2-NLRC4	Genome 2 NLR family CARD domain-containing protein 4
G3-NLRC4	Genome 3 NLR family CARD domain-containing protein 4
IBD	İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
IL-1	Interlökin-1
IL-1 β	Interlökin-1 β
IL-18	Interlökin-18
IL-18BP	IL-18 bağlayıcı proteinin
IgA	Immünoglobulin A
IgM	Immünoglobulin M
IgG	Immünoglobulin G
İKÇÜ	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
kbb	Kendinden Bağlı Braketler
MBT	Mc Laughlin, Bennett ve Trevisi
mg	miligram

mg/L	miligram/litre
mcg	mikrogram
MHC	Major Histocompatiblity Complex)
MxiH	Shigella flexneri
mPa.s	milipaskalsaniye
mRNA	Messenger Ribo Nucleic Acid
Mut	Mutant
Ni-Ti	Nikel Titanyum
Nod1	Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 1
Nod2	Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2
T3SS	Type three secretion system
Therma-Ti Lite	Light force heat activated archwire
Termo-aktif NiTi	Thermal active nickel titanium archwire
TriTanium	Three distinct thermally activated force archwire
tRNA	transfer RNA
µl	mikrolitre
NACHT	NLR family pyrin domain containing 3
NAIP	Baculoviral IAP repeat-containing protein 1
NAIP5	Baculoviral IAP repeat-containing protein 5
NBD	Nükleotid Bağlama Alanı
NLR	Nükleotid Oligomerizasyon Bölgesi Benzeri Reseptör
NLRC4	NLR ailesi CARD alanı içeren protein 4 (NLR family CARD domain-containing protein 4)
NLRC4-MAS	NLRC4 Related Macrophage Activation Syndrome
NLRP1	NLR Family Pyrin Domain Containing 1
NLRP2	NLR Family Pyrin Domain Containing 2
NLRP3	NLR Family Pyrin Domain Containing 3
NLRP6	NLR Family Pyrin Domain Containing 6
NLRP7	NLR Family Pyrin Domain Containing 7
NLRP10	NLR Family Pyrin Domain Containing 10
NLRP12	NLR Family Pyrin Domain Containing 12
NOD	Nodulation factors

P	Polymorphism
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PrgJ	Salmonella typhimurium
ppm	Parts per million
PPR	Picture Perfection Rate
PYD	Pyrin domain
RLR	Retinoik asit-indüklenebilir gen reseptörleri (retinoic acid-inducible gene-I-like receptors, RIG-like receptors)
RNA	Ribo Nucleic Acid
rRNA	Ribosomal Ribo Nucleic Acid
SIRS	Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
SREBP1	Sterol Yanıt Elemanı Bağlayıcı Protein-1
SS	Stainless Steel / Paslanmaz Çelik
sJIA	Juvenil İdiyopatik Artrit
T	Timin
TCR	T-hücre reseptörü
Ti	Titanyum
TLR	Toll Benzeri Reseptör
tRNA	Transfer Ribo Nucleic Acid
U	Uracile
UV	Ultraviyole
vb.	ve benzeri
VEO-IBD	Very–Early-Onset Inflammatory Bowel Disease
WHD	Winged Helix Domain
1XTBE	Tris Borate EDTA Buffer

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:	Paslanmaz çelik tel	9
Şekil 2:	Se NiTi ark teli	10
Şekil 3:	Metal hassasiyeti gösteren hastaların prevelansı	12
Şekil 4:	Hastaların, metal reaktivitesi gösterdiği metallerin sayısı (n = 250)	12
Şekil 5:	Metal alerjisi teşhisi konulan hastaların (n:700) alerjik olduğu metal sayısı	13
Şekil 6:	Hücre ve gen	21
Şekil 7:	DNA'nın yapısı	22
Şekil 8:	Gen Ekspresyonu (transkripsiyon ve translasyon işlemi)	23
Şekil 9:	İnflamazom moleküllerinin şematik yapısı	25
Şekil 10:	İnflamazom komplekslerinin yapısı	25
Şekil 11:	NLRC4 inflamazom sisteminin mikroorganizmayla uyarılması	27
Şekil 12:	NAIP-NLRC4 inflamazomunun aktivasyonu	28
Şekil 13:	NLRC4 inflamazom yolağının komponentleri	30
Şekil 14:	NLRC4 inflamazomu ve Caspas sistemi	37
Şekil 15:	NLRC4 proteini farklı domainlerindeki mutasyonların neden olduğu hastalıkların şematik yapısı	41
Şekil 16:	Hastanın tükürük örneği vermesi	48
Şekil 17:	NLRC4 Ölçümlerinin Histogram Grafikleri	54
Şekil 18:	NLRC4 Ölçümlerinin Box-Plot Grafikleri	55
Şekil 19:	ACTB Ölçümlerinin Histogram Grafikleri	55

Şekil 20: ACTB Ölçümlerinin Box-Plot Grafikleri	56
Şekil 21: NLRC4 Ölçümlerinin Diamond-Plot Grafikleri	56
Şekil 22: ACTB Ölçümlerinin Diamond-Plot Grafikleri	57
Şekil 23: NLRC4 Ölçümlerinin Violin-Plot Grafikleri	58
Şekil 24: ACTB Ölçümlerinin Violin-Plot Grafikleri	59
Şekil 25: NLRC4 Ölçümleri Arasındaki İlişkiler	60
Şekil 26: ACTB Ölçümleri Arasındaki İlişkiler	61
Şekil 27: Ölçümler Arasındaki Genel İlişkilerin İncelenmesi	62
Şekil 28: Real Time Data ($2^{-\Delta\Delta CT}$) zamana bağlı değişimi	63
Şekil 29: 0. gün NLRC4 sekans çubuk grafiği; normal, polimorfizm ve mutasyonlu bireylerin dağılımı	65
Şekil 30: NLRC4 proteinin farklı domainlerindeki mutasyonların neden olduğu hastalıkların şematik yapısı	75

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: NLR aile üyeleri	26
Tablo 2: Araştırmaya katılan birey sayıları ve ortalama yaş değerleri	46
Tablo 3: Reaksiyon ürünlerinin sekanslama protokol içeriği	51
Tablo 4: Prospektif olarak yapılan mRNA ortalama değerleri	54
Tablo 5: NLRC4 ve ACTB Ölçümlerinin Zamana göre Karşılaştırılması	58
Tablo 6: NLRC4 Ölçümleri Arasındaki İlişkiler	59
Tablo 7: ACTB Ölçümleri Arasındaki İlişkiler	60
Tablo 8: Ölçümler Arasındaki Genel İlişkilerin İncelenmesi	61
Tablo 9: Real Time Data ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) Zamana Bağlı Değişimi	63
Tablo 10: Tablo 10a, 10b: NLRC4 Sekans Listesi	64
Tablo 11: NLRC4 Sekans Listesi (0. Gün)	65
Tablo 12: Real Time Data ($2^{(-\Delta\Delta C_t)}$) Mutasyon (polimorfizm + mutasyon) olan ve olmayan grup arasındaki ilişkiler	66
Tablo 13: Real Time Data ($2^{(-\Delta\Delta C_t)}$) Mutasyon olan ve olmayan grup arasındaki ilişkiler	67
Tablo 14: Sekanslar ile Gen kategorileri arasındaki ilişkiler	67
Tablo 15: Zamana bağlı ölçümlerde mutasyon varlığı farkı	68

1. GİRİŞ

Ortodonti, çene ve yüz kompleksinin normal gelişimini ve anomalilerini inceleyen, tanı ve tedavisi açısından değerlendiren bilim dalıdır (1). Ortodontide, dentofasiyal özelliklerin poligenik ve sürekli değişken olduğu görüşü genel bir kural olarak kabul edilir (2). Ancak çizgi, açı ve boyutları kullanan geleneksel sefalometri analiz türleri, genetik çalışmalarda sınırlı değere sahip bilgiler vermektedir (2). Bu yapılar genel olarak birkaç anatomik yapıya ve büyüme bölgelerine yayılan yapıların herhangi birindeki veya tümündeki değişikliklerden etkilenebileceği için elde edilen sonuçlar biraz ihtiyatla ele alınıp kabul edilmelidir (2). Kafatası gelişiminin, iskeletin diğer kısımlarında olduğu gibi genetik ve çevresel olmak üzere iki ana değişken kaynağı vardır (2). Kraniyofasiyal kompleksin normal yetişkin boyutunu ve şeklini belirlemede bu faktörlerin rollerinin önemi, günümüzde ortodonti alanındaki en tartışmalı ve önemli sorunlardan biri olarak kabul edilmeye devam etmektedir (2). Brodie (3) kafatası, yüz ve diş yapısının gelişiminin, kalıtsal bir büyüme modeline dayandığını bildirmiştir. Genetik kontrol biçimi ise büyük ölçüde bilinmemektedir (2). Kalıtımın etkisinin araştırılmasında ilerlemeyi geciktiren en büyük sorunlardan biri, çok faktörlü kalıtımın karmaşık yapısı olmuştur (2).

Brodie (3), sefalometrik çalışmalardan elde ettiği bulgulardan yola çıkarak; morfogenetik insan kafatasının şeklinin çok erken yaşta oluştuğunu ve değişmediğini; tüm bu parçaların büyüme artışlarının grafiği, sinirsel büyümeye özgü gradyan eğrileri gibi olduğunu ve doğumdan sonra her kemiğin sürekli azalan bir oranda büyüdüğünü göstermiştir. Farklı genlerin kafatasının farklı kısımlarını etkilemesi durumunda, lokalize alan göçleri arasındaki ilişkileri içeren ölçümlerin, daha büyük ve daha geniş olarak ayrılmış alanları içerenlere göre kalıtsal benzerlikleri daha tutarlı bir şekilde gösterdiğini belirtmiştir (4). Bir kemik segmentinin konturunun, o kemiğin “Toplam Morfolojik Konfigürasyonu” söyleminin bir ifadesi olduğunu ve bu nedenle de kemiğin genetik kontrolünü yansıtabileceğini öne sürülmüştür (5).

Epitel doku çeşitli düzeyde patojenlerle karşı karşıya kalmaktadır. Epitel, geleneksel olarak savunucu fakat pasif bir engel olarak düşünülmüştür. Bununla birlikte epitelin, bariyer homeostazını korumak ve enflamatuar tepkiye katkıda bulunmak için bu sinyalleri algıladığı ve aktif olarak yanıt verdiği de ortaya çıkmıştır.

(6) Doğuştan gelen immün yanıtlar, patojenlere karşı konak savunmasında oldukça önemlidir (7,8). Yerleşik makrofajlar, bu tehditlere cevap verme aşamasında önemli bir rol oynar (9). Makrofajlar, enflamasyonun aktivasyonu da dahil olmak üzere çeşitli tehditleri tespit etmek için çok sayıda hücre membranında ve sitozolde farklı reseptör açığa çıkarırlar ve bu durum birçok çalışmada incelenmiştir. Bunların görülme sıklığı, coğrafik köken, ırk, etnik geçmiş ve sosyoekonomik duruma göre değişkenlik göstermektedir. (10,11)

Epitel hücreleri, Toll benzeri reseptörler olan (TLR'ler) TLR2, TLR4 ve TLR5 gibi membrana bağlı reseptörler yoluyla ve intrasellüler TLR3, TLR7 ve TLR9 reseptörler vasıtasıyla da tehditleri algılayabilmektedir. Bunun yanı sıra, patojenler ile ilişkili sinyalleri tanıyan nükleotit oligomerizasyon bölgesi benzeri reseptörler (NLR'ler) de bulunmaktadır. NLR ailesine ait intrasellüler yerleşimli farklı inflamazom sistemleri bulunmuştur. (10,11)

Çeşitli etkenler nedeni ile bir metalin termodinamik stabilitesinin bozularak katı formundan iyonik formuna geçmesi sonucunda, o ortama iyon salınımı yapmasıyla korozyon ortaya çıkmaktadır. Metallerin korozyona yatkınlığı, o metalin termodinamik stabilitesi ile ilişkilidir. (12-17) Korozyonun en önemli etkileri, metalin kimyasal özelliklerinin değişerek dermatolojik, mutajenik ve toksikolojik yan etkiler göstermesidir. (18) Ortodontik tedavilerde kullanılan çeşitli metaryeller, ağız içi ortamlarda korozyona uğrayabilmektedir. Bu durum ile ilgili yapılan çalışmalarda, ortamda ağır metal emarelerine rastlanmıştır. (12,18-20)

Literatürde, NLR ailesi üyelerinden biri olan NLRC4 inflamazom yolunun lokal olarak ağız boşluğunda olan geçici metal malzemelerin oluşturduğu enflamasyonla ilişkisini araştıran herhangi bir araştırmaya rastlamadık. Bu çalışmada, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Ortodonti Anabilim Dalı'na, daha önce hiçbir ortodontik tedavi görmemiş olan ve klinik rutinde ortodontik tedavi olmak için başvurmuş bireylerden alınan genetik materyal örnekleri üzerinde NLRC4 inflamazom yolağı gen ekspresyon düzeylerinin prospektif olarak araştırılması hedeflenerek, ortodontik sabit tedavi materyallerinin, hastaların ağızında oluşabilen enflamasyon üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmanın sıfır hipotezi, ‘‘Ortodontik sabit mekanik kullanan hastalarda NLRC4 inflamazom yolağı gen ekspresyon düzeylerinde fark yoktur’’ olarak belirlenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ortodonti Nedir?

Ortodonti diş, çene ve yüz yapısını kendi içinde ve birbirleri arasındaki normali, normalden sapmış durumları ve ilişkileri; tanı, tedavi ve öngörü gibi amaçlarla inceleyip; bireyi fonksiyon, fonasyon ve estetik açıdan iyileştirmeyi ve daha harmonik hale getirmeyi hedefleyen diş hekimliğinin bir alanıdır. Ortodontinin amacı; başta ortodontik anomalinin ortaya çıkmasına engel olmak, sonrasında ise ortaya çıkmış bu anomaliyi tedavi etmektir. Bu şekilde bireye iyi bir estetik, konuşma, çiğneme ve erişilen durumun kalıcı olması sağlanır. Ortodontide hedef, daima sürekli diş kavsidir. (21)

Ortodontik anomalilerin küçük bir bölümü kalıtsal olup, çoğunluğu sonradan kazanılmıştır (21). Ortodontik tedavinin başarısı, doğru teşhise bağlıdır. Anomalinin hangi bölgeyi ilgilendirdiğini, var ise çevrenin bu durumu kompanse etmek için hangi uyum mekanizmalarını, hangi bölgelerde çalıştırdığını ve anomalinin nedenini iyi anlamak gerekmektedir.

2.2. Ortodontik tedavi çeşitleri nelerdir?

Ortodontik tedavileri ana başlık olarak ikiye ayırmak mümkündür. Birincisi fonksiyonel tedaviler olarak adlandırılan ve genellikle üzerinde aktif elemanlar içermeyen ve vücudun kendi gelişim ve büyüme atağından faydalanan tedavi yöntemleridir. İkincisi ise hareketli ya da sabit ortodontik aygıtlardan oluşan ve mekanik kuvvetlerle anomalileri tedavi eden yöntemlerdir.

2.2.1. Sabit Ortodontik Tedavi Nedir?

1911 yılında, Dr. Edward Angle'ın ilk sabit mekanikler olarak tanıttığı pin ve tüp kombinasyonunun ardından sabit ortodontik malzemelerdeki gelişme ve güncellemeler devam etmektedir. İlerleyen dönemde, malzeme teknolojisinin gelişmesiyle; Edgewise sistem kullanıma girmiştir. Light-wire ve Begg tekniklerinin ardından angulasyon, tork ve in-out değerleri olan braketler geliştirilerek Straight Wire (braket) sistemleri elde edilmiştir. Özellikle son zamanlarda materyal üretimi ve tasarımı alanında yaşanan gelişmeler ile beraber; ark tellerini içinde tutma özelliği de

olan kendinden bağı braket (kbb) ve değişik alaşımlardan üretilmiş çeşitli şekillere sahip ark telleri de kullanılmaya başlanmıştır. (22) Paslanmaz çelik tellerin ardından Begg ve Wilcock'un geliştirdiği light-wire teller; mühendislik alanında yaşanan gelişmeler ile nikel titanyum (Ni-Ti) alaşımlar ile şekil hafızasına sahip teller de kullanıma girmiştir. (23)

Malzeme teknolojisindeki gelişmeler, ortodonti alanında da malzeme çeşitliliğini arttırmaktadır. Ortodontistler, hasta ağzında daha az yer kaplayan, daha fazla performans sunan ve hasta başında geçirdikleri zamanı azaltan malzemeleri tercih etmektedirler.

2.3. Ortodontik Tedavide Kullanılan Tellerin Özellikleri Nelerdir?

Altın, paslanmaz çelik, krom-kobalt (Cr-Co), beta titanyum, nikel titanyum ve kompozit tel materyalleri ortodonti alanında kullanılmaktadır (24).

1. Altın alaşımlar:

Altın, ortodonti alanında kullanılan ilk tel alaşımıdır. Ağız içinde istenilen performansta kullanabilmek için yumuşak şekilde olan altına platin, paladyum ve krom ilave edilmiştir. Maliyetinin yüksek olması nedeni ile günümüzde tercih edilmemektedir. (24,25)

2. Paslanmaz çelik alaşımlar:

1950'den beri ortodontide yoğun olarak kullanılmaktadır; yüksek katılık ve dayanıklılık ile düşük geri yaylanma ve çalışma aralığı özelliği vardır (26-28). Şekil alabilme, esneyebilme ve düşük maliyetleri tercih edilmelerine neden olmuştur (25). Yüksek katılık özellikleriyle bu teller, seviyeleme dönemi için uygun bulunmamaktadır. (29) Bu ostenit (12,24) teller %70-75 demir, %18 krom (12), %8 nikel (12) ve %0,2 karbon içermektedir (25). Korozyona karşı direnci krom arttırırken, stabiliteyi nikel, sertliği ise karbon sağlar. (25) İçerdiği krom ve nikel oranlarından dolayı 18-8 olarak da isimlendirilir (29).

3. Krom-kobalt alaşımlar:

1950'li senelerde "Elgiloy" olarak da adlandırılan bu teller, kullanıma sunulmuştur. Muhteviyatında %40 kobalt, %20 krom, %15-20 demir, %15 nikel ve %7 molibden bulunur (24,25,28,29). Ortodontik ark tellerinde uygulanan zemberek

bükümleri, yumuşak haldeyken kolaylıkla yapılır; 482⁰C’de 7-12 dakika ısıtılardan (heat treatment) geçirildiklerinde ise sertleşirler (24,30). Bu şekilde, Cr-Co tellerin özellikleri, paslanmaz çelik tellere çok benzer (24,26,30); üstünlüğü ise kırılmaya ve distorsiyona daha mukavemet göstermesidir (24,30). Elgiloy teller, dört ayrı formda üretilir (yumuştan katıdan yumuşaka doğru); rezilient (kırmızı), yarı rezilient (yeşil), esnek (sarı) ve yumuşak (mavi) (29,30). Bu teller, Ricketts’in “Bioprogressive Technic” tedavisinde kullanılmaktadır (29).

4. Beta Titanyum teller:

Bu teller %78-80 titanyum, %11,5 molibden, %6- zirkonyum ve %4,5 kalay içermektedir (1,31). Paslanmaz çelik teller ile karşılaştırıldığında %40 daha fazla elastik yapı göstermelerinin yanı sıra geri yaylanma değerleri öbür tellere oranla daha fazla bulunmuştur, bu nedenle çalışma aralığı geniş kabul edilir. (1,24,25,31) İçeriğindeki kalay ve zirkonyum telin kuvvetinin ve sertliğinin artmasına yardımcı olur (25). Nikel içermemesi ve yüzeyindeki TiO₂ tabakası sayesinde bu telin biyolojik uyumluluğunu ve korozyona karşı direncini sağlamaktadır. (1,25) Elastikiyet özelliği bakımından paslanmaz çelik ile nikel titanyum teller arasında yer alır (24,29). Bu tel, şekil alabilme özelliğine de sahiptir (1). Kaynak yapılabilmesi ve şekil verilebilmesinin kolay olması, beta titanyum telleri (24) NiTi tellere göre, çalışma alanının geniş olması da çelik alaşımlara ve Elgiloy’a kıyasla avantajlı duruma getirir (1). Tüm bu özellikleri sayesinde beta titanyum teller, klinikte tercih nedeni olan uzun süreli hafif kuvvet uygulama özelliği mevcut materyallerdendir (29). Titanyum molibdenyum alaşımı tellerin, nikel titanyum ve paslanmaz çelik tellere göre çok daha fazla sürtünme değerine sahip oldukları pekçok araştırmada belirtilmiştir (24,32-39). Bu sebeple kaydırma mekanikleri yerine sürtünmesiz bölümlü ark düzeneklerinde (29) ve başlanmış tedavilerin ilerleyen zamanlarında kullanılmaktadır (24, 31,39).

5. Nikel Titanyum (Ni-Ti) teller:

Buehler tarafından 1968 yılında tanıtılmıştır (31). NiTi ark telleri, ortodontik tedavinin levelling (seviyeleme) aşamalarında yeterli diş hareketi ve istenilen biyolojik cevap için kullanılmakta (40) ve düşük sertlik ile yüksek derecede süperelastik özellik (29) göstermektedir.

Deformasyona (eğme, kıvrıma, vb.) maruz kalan şekil bellekli malzemeler, ısıtılmaları sonucunda eski şekline geri döner. Martenzik yapıdaki teller, şekil

belleğine sahiptir. Martenzitik halde deformasyona uğratılan şekil bellekli alaşım, ısıtma sonucu yüksek sıcaklık fazı ostenite dönüşerek deformasyondan önceki durumuna döner. (41)

Şekil belleğine sahip alaşımların en karakteristik özelliği martenzitik yapıya sahip olmalarıdır. Bunlar, sıcaklık veya gerilme değişimi ile sabit bir çalışma alanında hem martenzitik hem de ostenit faza geri dönebilen alaşımlar grubudur. Bu alaşımlar şekil bellek etkisi veya pseudoelastisite (yalancı elastiklik) gösterir. (41)

%50 nikel ve %50 titanyumdan oluşan martensit yapılı Ni-Ti alaşımla ilgili olarak önemli özellik ise geri yaylanma durumunda düşük kuvvet göstermesidir (51). Çalışma zamanı, ortam ısısı ve malzemenin özellikleri NiTi alaşımların mekanik özelliklerini belirler. Bu alaşımda bulunan nikel iyonlarının korozyon sonucu ortama salınması ile alerji oluşturma riski mevcuttur. (31)

Üç çeşit Ni-Ti tel kullanılmaktadır (28,31,42).

a. Konvansiyonel Tip Martensit fazda stabil olup faz geçişi göstermeyip pasiftir (31).

b. Psödoelastik Tip Ni-Ti teller, ostenit fazda aktif tellerdir (31). Mekanik kuvvetler ile aktif ostenit fazdan, martensit (çok sert ve gevrek) faza, sonra da ostenit faza geçiş gösterebilme özelliğine sahiptir (43).

c. Termoelastik Tip Ni-Ti teller, martensit yapıda bulunan aktif tellerdir ve ağız ısısında faz geçişi gösterebilmektedir (31).

2.4. Ortodontik Tedavide Kullanılan Metal Braketlerin Özellikleri:

1.Paslanmaz Çelik Braketler:

Paslanmaz çelik braketler frezeleme, döküm, sinterleme ve metal enjeksiyon kalıplama olmak üzere dört farklı teknikle üretilir (28,29). Bu braketlerin büyük kısmı tip 300 paslanmaz çelikten üretilmektedir. Günümüzde kullanılan braketlerin çoğu ostenit paslanmaz çelikten üretilip ve 18-8 şeklinde isimlendirilip %18 krom ve %8 nikel içerir. (28,29) Sağlıklı, dayanıklı ve ucuz bir alaşım olmasından ötürü yıllardır en çok tercih edilen braket materyali olmuştur (29). Ancak korozyona uğradığında, ortama Cr ve Ni saldığı unutulmamalıdır (29).

2. Titanyum braketler:

Telin boyutunun artmasıyla, titanyum braketler daha düşük statik ve kinetik sürtünme kuvveti gösterir; paslanmaz çelik braketler ise tel boyutu arttıkça daha yüksek statik ve kinetik sürtünme kuvveti göstermektedir (44). Bu braketler özellikle, alaşımlarında nikel ihtiva etmediklerinden dolayı nikel alerjisi mevcudiyetinde kullanılabilir. Titanyum braketlerin bükülmeye karşı dirençleri düşüktür. Bu durum, dezavantaj olarak kabul edilebilir. Bu braketler, mükemmel korozyon direncine sahiptir ve biyouyumludur (44). Bununla birlikte, son dönemlerde nadir olsa da alerjik reaksiyon bildirilmiştir (15).

2.5 MBT Tekniği

Mc Laughlin, Bennett ve Trevisi kendi adlarını verdikleri MBT sistemini tasarlayarak, hafif ve sürekli kuvvetlerle karakterize straight wire sistem olan mekaniği geliştirdiler. Bu teknikğin, hizalama ve seviyeleme aşaması şunları içerir: Termo-aktif Ni-Ti ark tellerinin kullanımı; kanin diş retraksiyonunu kontrol etmek için lace-back kullanımı; kesici dişlerin anterior hareketini kontrol etmek için cinch-back kullanılması; yer kazanmak için open coil kullanımı ve tedavinin başlangıcından itibaren ark formu korunması. MBT Sistemde 0.019" X 0.025" paslanmaz çelik (SS) teller dişsel orta hatların düzeltilmesi ve kalan boşlukların kayma mekanikleri ile kapatılması için son ark teli olarak kullanılır. (45,46)

2.5.1. MBT Sistemde Kullanılan Ark Telleri ve İçerikleri:

1. Paslanmaz Çelik Teller (Stainless Steel Wire, SS)

Paslanmaz çelik,

Amerikan Ortodonti firmasının paslanmaz çelik telleri, vakumla yeniden eritilmiş 304V paslanmaz çelik alaşımdan yapılmaktadır. Bu durum, üstün gerilme mukavemetine ve daha az kırılabilirliğe sahip bir ark teli sağlamaktadır. Tüm kavis, kırılmayı ve aşırı sürtünmeyi azaltmak için dikkatli bir şekilde gerilimden arındırılıp cilalanmaktadır. (47)



Şekil 1: Paslanmaz çelik tel. (47)

Çok Sarımlı Paslanmaz Çelik Teller (47)

Çok telli paslanmaz çelik tel, eşdeğer tek telli telden daha fazla esneklik ve kırılmaya karşı direnç sağlar.

2. Krom – Kobalt Alaşımlı Teller (47)

Üstün fiziksel özelliklere sahip benzersiz bir krom kobalt alaşımı olan bu tel, çeşitli ortodontik uygulamalar için idealdir. Paslanmaz çelikten daha yumuşak olan Çok Fazlı Mavi tel, kırılma riski olmadan kolayca bükülebilir ve manipüle edilebilir ve daha sonra daha fazla kuvvet uygulaması için yay / çekme özelliklerini yükseltmek için çeşitli şekillerde ısıl işleme tabi tutulabilir. Manyetik değildir ve korozyona dayanıklıdır. Metal, tavlama olmadan düşük sıcaklıkta çok fazlı tel olabilir. Ayrıca elektrolitik cilalamayada uygundur.

3. Nikel Titanyum Teller (47)

Arkların hizalanması ve seviyelenmesi ortodontik tedavinin başlangıç aşamasıdır. Tellerin braketlere bağlanması ile tedavi başlar. Genellikle ortodontik tedavinin başlangıç ve seviyeleme aşamasında kullanılmakta olan Niti ark telleri, yüksek süperelastik ve düşük sertlik gösterir. (40)

NT3 Nikel Titanyum Ark Teli (Şekil 2) (47)

- Oda sıcaklığında tamamen aktif,
- Mükemmel geri yaylanma sergiler,
- Hastalara karşı nazik, ancak en zorlu vakaları bile hizalayacak kadar güçlü
- Orta düzey kuvvetler ile bitirme hariç, tüm tedavi aşamaları için uygun bir seçimdir.

Therma-Ti® Lite (47)

- Isıyla harekete geçen tel, en hafif kuvveti uygular ve 35° C'de aktif duruma geçer,
- Oda sıcaklığında, kolay ve rahat tel yerleştirmek için yumuşaktır,
- Düşük kuvvet uygulamaları için tüm kesitleri, en uygun olanıdır,
- İlk tedavi aşamasında optimal hafif kuvvetleri sağlar

TriTanium™ Tel (47)

Farklı dişler, hareket edebilmek için farklı seviyelerdeki güç gereklidir. TriTanium, etkili bir şekilde düzenleme, hizalama ve tork için ön, küçük azı ve molar ark bölgelerine doğru / yeterli kuvveti uygulayan üç ayrı termal olarak aktive edilmiş kuvvet bölgesine sahiptir. Diğer herhangi bir ark teli ile benzer sonuçlar elde etmek için birden fazla ark teli değişikliği gerekebilir.

- Üstün hasta konforu,
- Daha az ark teli değişikliği,
- Daha uzun tedavi aralıkları sağlar.



Şekil 2: Se NiTi ark teli. (47)

4. Beta-Titanyum Teller (47)

- Tedavinin tüm aşamalarında son derece etkili bir teldir.
- Süper elastik nikel titanyum tel ve paslanmaz çelik arasında, orta sertlik gösterir.
- Paslanmaz çeliğin iki katı geri yaylanma özelliği ile son derece şekillendirilebilir bir teldir.

- Zemberekleri ve bükümleri kolaylaştırmak için arklar, ekstra uzunluğa sahiptir
- Nikel içermez

2.6. Korozyon

Geniş kullanım alanına ve çeşitliliğine sahip malzemelerin biyouyumlulukları hasta ve hekim sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (48). Ortodontik tedavilerde çok çeşitli metal alaşımları kullanılmaktadır. Ortodontik tedavide kullanılan farklı ark telleri %40-60 kobalt, %15-54 nikel, %20-30 krom içerir (18). İn vitro ve in vivo ortamda çeşitli sabit ortodontik aygıt kullanımı ile yapılan çalışmalarda önemli düzeyde iyonik materyallere tükürük ve kan örneklerinde rastlanmaktadır (12,18-20,49). Çeşitli etkenler sebebiyle bir metalin termodinamik stabilitesinin bozularak katı formundan iyonik forma geçmesi sonucunda, ortama iyon salması ile korozyon ortaya çıkar (50). Metalin korozyona yatkınlığını o metalin termodinamik stabilitesi belirler (50). Korozyon, metalin kimyasal özelliklerinin değişerek dermatolojik, toksikolojik, mutajenik ve sitotoksik yan etkiler göstermesidir (18). Faccioni ve ark. (18), Sabit ortodontik aygıtlarda bulunan Nikel ve Kobalt'ın, DNA hasarını indüklediğini bildirmiştir. Ortodontide koroziv metal iyon salınımı; bazı hastalarda; eritem, ödem, hiperplazi, vezikül, ülser (13) ağız yanması, ağızda acı hissi ve ağrı, kontak dermatit, kronik alerji oluşumları, baş ağrısı ve genel halsizlik durumları gibi lokal ya da sistemik tablo olarak karşımıza çıkmaktadır (51). Üretici firmalar dental alaşımların korozyona karşı savunmasızlığının farkındadır ve bu olası yıkımı önlemek amacıyla çeşitli modifikasyonlar yapmaktadır. Bu modifikasyonlardan biri de Ni-Ti ark tellerinin yüzeyini teflon, vb. materyallerle kaplayarak, korozyonun önüne geçilmesinin hedeflenmesidir. (52-54)

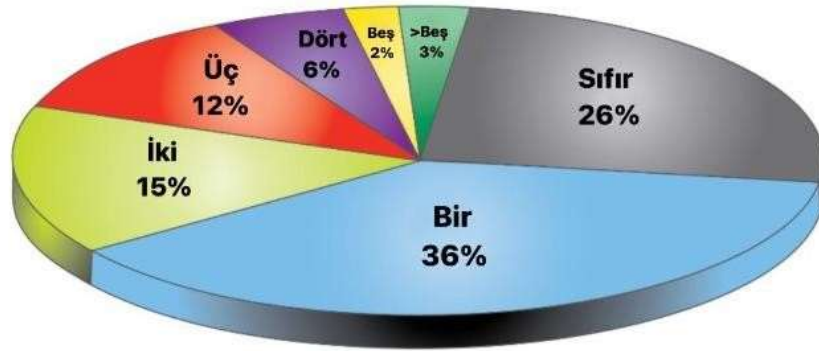
2.6.1. Vücutta kullanılan metallerin lokal / sistemik yan etkileri

Metaller; lokal veya genel alerjik belirtilere neden olabilir. **Metal alerjisi, bağışıklık sisteminin kimyasallara verdiği geç tip alerjik reaksiyondur ve toplumda yüksek oranda gözlenir.** Alerjen madde temasından kırk sekiz saat sonra semptomlar ortaya çıkabilmektedir. Kızarıklık ve yanmayla başlayan ve sonrasında deride veziküller ve kalınlaşmayla takip eden alerjik kontakt dermatit, bu duruma en yaygın örnek olarak gösterilebilir. Maruziyet kalktıktan birkaç hafta sonra doku

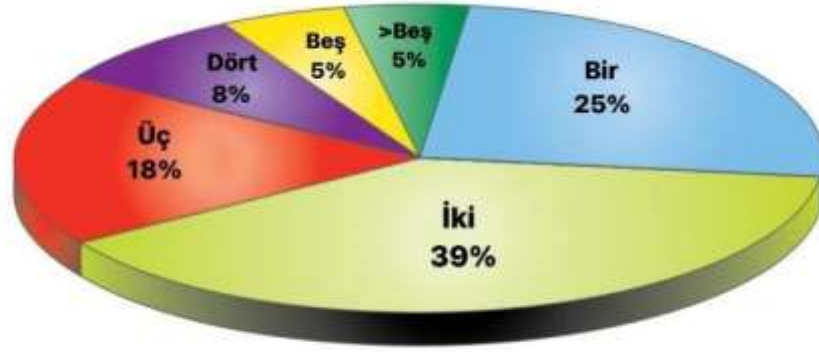
iyileşir. Anamnezde hastalara, alerji geçmişi sorulması faydalı olacaktır. Toksik ve alerjik reaksiyonlara, metal alaşımlar sebep olmaktadır. Lakin bu tip reaksiyonların oluşması için metal iyonlarının korozyon ile ortaya çıkması gerekir. (13)



Şekil 3: Metal hassasiyeti gösteren hastaların prevalansı. (14,16)



Şekil 4: Hastaların, metal reaktivitesi gösterdiği metallerin sayısı (n = 250). (15,16)



Şekil 5: Metal alerjisi teşhisi konulan hastaların (n:700) alerjik olduğu metal sayısı. (16)

Nikel, biriken bir toksin değildir ve yaklaşık %90'ı böbreklerden idrar ile uzaklaşmaktadır. Ayrıca, tükürük ve ter ile de elenebilmektedir (25). Yaklaşık 4,5 mg/L nikel seviyesi olarak belirlenmiştir (55). Bileşiklerden nikel salınımı ile toksik dozu (1 ppm) ortaya çıkar. Baş dönmesi, baş ağrısı, sersemlik hali, mide bulantısı hissi ile kusma, akut nikel zehirlenmesi göstergesinin ilk bulguları arasındadır. Şiddetli olgularda ise nefrotoksik etki, nefes darlığı, mental konfüzyon ile titreme de görülebilmektedir. Yaygın pnömoni ve beyin ödemi ile bu durum ölümle sonuçlanabilir. Plasentayı aşabildiğinden embriyotoksik ve teratojenik özellik gösterebilir. (56) Kadınlarda oluşan alerjik dermatitin ilk nedeni nikeldir. Kadınlarda %10, erkeklerde ise %1 oranında nikel alerjisi gözlenmektedir. (43,57) Kontakt dermatitin ortaya çıkma nedenlerinden biri de nikel içeren maddeler ile doğrudan temastır (57). Nikel, kontakt alerjinin en çok görülen nedenidir ve diğer materyallerin hepsinin birleşiminden daha çok alerjik reaksiyona neden olduğu bilinmektedir (57). İmmünolojik cevapta, genetik faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir (58). Nikel'in alerjik etkilerine ilave olarak karsinojenik, mutajenik ve sitotoksik etkileri de bildirilmiştir. (57)

Kobalt allerjisi, dental alaşımlara bağlı olarak nadiren oluşur. Genel olarak, oral alım miktarı 25–30 mg'yi aştığında toksik reaksiyonlar ortaya çıkar (59). Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü, vücuda kobalt iyonları salınmasına neden olan kobalt ve kobalt bileşenlerini, kansere neden olan maddeler arasında listelemiştir (60).

Krom alaşımlarının kullanımına bağılı olarak alerjik reaksiyonlar gelişebilmektedir (51,60). Krom (Cr)'un alerjik etkilerine ilave olarak karsinojenik, mutajenik ve sitotoksik etkileri de bildirilmiştir fakat valans değeri göz önüne alınmalıdır. (61)

Titanyum, restoratif diş hekimliğinde ve implant tatbikinde biyouyumluluğunun yüksek olması sebebiyle popülerdir (62). Ağız ortamında korozyona en dirençli metal titanyumdur (13). Krom-kobalt alaşımlardan daha az olsa da titanyuma karşı da **metal alerjisi ve hassasiyeti** söz konusudur (60,62). Son zamanlarda daha sık tercih edilen titanyumla ilgili alerjik şikayetler görülmeye başlanmıştır. Titanyum alerjisi çok da iyi bilinmemekle birlikte, bireylerin ortalama %4'ünün aşırı duyarlılık göstereceğı bildirilmiştir. Titanyuma aşırı duyarlılığı olan bireylerde gözlenen belirtiler birbirinden farklı olabilmektedir. Bu semptomlar basit deri döküntüleri, kontakt dermatit, myalji ve süregelen yorgunluk gibi değışkenlik gösterebilir. Titanyum ile temasın çoğunlukla implant (diş / tıbbi), kişisel bakım ürünleri ve gıda kökenli olduğı görülmüştür. Çoğunlukla diş implantlarının içerdiği titanyum, biyolojik sıvılar ve dokuların içerisinde serbest kalabilmektedir. Ağız mukozasında titanyum penetrasyonunun belirtileri görülmüştür. (51) Müller ve Valentine-Thone, verilerinin titanyumun kronik olarak dental veya endoprostetik implantlara maruz kalan hastalarda klinik olarak aşırı duyarlılığı indükleyebileceğini açıkça gösterdiğini bu nedenle Ti artık biyolojik olarak inert olarak kabul edilmemesi gerektiğini bildirmiştir (62).

Bakır ve çinko hayat için gereken, az doz toksisite içeren elementlerdir (61). Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre, yetişkinlerde çinko ihtiyacı 22 mg/gün'dür. Bu doz, diş restorasyonlarından açığa çıkan iyon ölçüsünün altında bulunmaktadır. Diş protez kökenli alerjik veya toksik reaksiyonların ortaya çıkma ihtimali düşüktür. (61)

Akrilik monomerlerin (metil metakrilat) çapraz alerjisi nedeniyle bazı çoklu alerjik reaksiyonlar oluşabilmektedir. Alerjik reaksiyonlar çoğunlukla kontak alerji / dermatit, egzama olarak izlenmektedir. (63)

Dental materyallerle ağız dokuları arasındaki etkileşimlere dair verilerin artması ve test teknolojilerinin gelişmesiyle, biyolojik uyumluluk değerlendirme yolları da hızla gelişip ilerlemektedir. Ortama salınan metal iyonlarının değerlendirme aşaması için in vivo ve in vitro testlerden faydalanılmaktadır.

2.6.2. Ortodontik tedavide kullanılan ağız içi malzemeler ve olası etkileri:

Vücutta bulunan serbest radikallerin çoğalmasa veya antioksidan maddelerin azalmasıyla, serbest radikaller normal makromoleküller ile etkileşime girebilmekte ve doku hasarına neden olabilmektedir. Bu durum hücrelerde DNA hasarına neden olur; bu sorun hücresel DNA tamir mekanizmaları ile giderilebilmektedir. (64) Ortodontik materyallerde fazlaca kullanımda olan demir, bakır, krom, kobalt gibi ağır metallerin doğrudan; nikelin ise dolaylı yollardan serbest radikal üretebildiği bilinmektedir (65).

Sabit ortodontik uygulamalar sonucunda, ortalama 40 mcg/gün nikel açığa çıkmaktadır. Bununla birlikte, ortodontik tedavi gören kişilerde, raporlanmış nikel bağılı kontak dermatit vakası oldukça azdır. (66)

Yapılan bir *in vitro* çalışmada, sabit mekaniklerden ilk 8 günde çok fazla nikel açığa çıktığı raporlanmıştır (49). Sabit mekaniklerle tedavi edilen hastalardaki krom, kobalt ve nikel derişiminin araştırıldığı çalışmada, sadece nikel seviyesi fazla saptanmıştır (20). Faccioni ve ark. (18), sabit mekaniklerden metal açığa çıkışını *in vivo* ortamda incelemiş ve sabit tedavi gören bireylerde nikel ve kobalt konsantrasyonunun sırasıyla 3,4 ve 2,8 misli daha fazla bulmuş; Hücresel canlılığın hastalarda kontrollere göre önemli ölçüde daha düşük olduğunu ve metal seviyeleri ile anlamlı bir negatif korelasyon olduğunu ve bu sonucun DNA harabiyetine neden olduğunu bildirmiştir.

de Souza ve ark. (67) sabit ortodontik tedavi gören 30 hastada 10. dakika, 24. saat 30. ve 60. günlerde aldığı tükürük numunelerinin, atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile yaptıkları analiz sonucunda nikel, krom ve demir iyonlarının konsantrasyonlarında bireyler arasında büyük bir değişkenlik olduğunu; materyaller ağza yerleştirildikten hemen sonra nikel ve krom iyonlarında artış olduğunu raporlamıştır.

Yapılan bir klinik çalışmada, sabit mekaniklerin uygulanmasını takiben yedinci, otuzuncu ve altmışıncı günde tükürükte nikel ile krom seviyelerinde fark gözlenmemiştir (68). Ağaoğlu ve ark. (19) ise kan nikel ve krom seviyelerinde anlamlı değişikliklere farklı zamanlarda rastlamış, tükürük nikel ile krom seviyesini otuzuncu günde en üst düzeye ulaştığını fakat bu yükselmenin toksik düzeylere varmadığını bildirmiştir.

Toms (69), ortodontik tedavilerde ark teli ve damar yolu tıkanıklıklarında stent olarak kullanılan nikel titanyum materyalindeki nikelin, ortamda bulunması veya deri ve mukozaya temas etmesiyle alerjik sonuçlara sebep olabildiğini bildirmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, sabit mekaniklerden ortama salınan nikelin, alerjik bireylerde periodontal sorunların oluşmasında önemli derecede yükselmeye neden olduğu saptanmıştır (70).

Ceyhan ve ark. (71) titanyum alaşımlarının olumsuz etkilerinden, aşınma direncinin düşük olması ve titanyum iyonlarının karaciğer, böbrek ile kalp gibi organlarda birikiyor olmasının çok önemli olduğundan bahsetmiştir. Metal iyonlarının vücuda salınımının varlığı, özellikle eklem implantlarında vücudun yabancı cisim olarak algılamasına sebep olabildiğini söylemişler ve implant gevşemesinin belirlendiği bireylerin %64'ünde, sorunun metal alerjisi kaynaklı olduğunu belirtmiştir (71).

2.6.3. Bu konuda geliştirilen malzemelerin özellikleri:

Aşınmaya karşı dirençli, sağlam ve düşük kırılma katsayısı olan elmas benzeri filmler [Diamond Like Coating (DLC)] mevcuttur. Bununla birlikte DLC, biyouyumluluk etkisi oluşturması için materyallerin kaplanması kullanılmaktadır. (25) Kobayashi ve ark. (72), DLC film ile NiTi telleri kaplaması sonucunda ark telinden açığa çıkan nikel miktarının altı kat azaldığını saptamıştır. Tüm ark telleri oksidatif stres kaynağıdır; Bakır-nikel-titanyum ve rodyum kaplı nikel-titanyum, geleneksel nikel-titanyum ile karşılaştırıldığında nispeten daha düşük toksisite gösterir; bu onları aynı biyomekanik amaçlar için mevcut tek alternatif yapar (64). Biyolojik açıdan, paslanmaz çelik mevcut en iyi seçenektir (64).

2.7. Enflamasyon

Enflamasyon; bağışıklık sisteminin, vücut dışından veya içinden gelen her türlü saldırıya verdiği cevaptır (10). Bunun amacı; harabiyete sebep olan nedeni ve açığa çıkan maddeleri yok etmek, bu maddeleri oldukları bölgede hapsetmek ve kontrol altına alındıktan sonra da harabiyete uğramış olan bölgelerin onarımını ve yenilenmesini sağlamaktır (73-75).

Enflamasyon başladığı andan itibaren vücutta normalden fazla protein salgılanır. C-Reaktif proteinleri (CRP), prokasitonin, serum amloid A proteini, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR, mm/hr) testleri kandaki enflamasyonun

göstergeleridir. Kanda yapılan yüksek duyarlı hs-CRP testi sağlıklı insanlarda düşük seviyeli kronik enflamasyon varlığını ölçmek açısından gereklidir. Sağlıklı bir insanda CRP değeri 1 mg/L'nin altında ölçülmektedir. (11)

Akut Enflamasyon

Başlangıcı hızlı olan, az zamanda şiddetli tablo gösteren ve bulguları bir veya birkaç gün devam eden enflamasyon çeşididir. Travma, mikrobiyal enfeksiyon ya da zararlı olan maddelerin sebep olduğu doku harabiyeti akut enflamasyonu başlatır. (76) Akut enflamasyonun belirtileri; çoğunlukla temas ile izlenen ağrı, kızarıklık, şişlik, ısı artışı ve fonksiyon kaybıdır (76).

Kronik Enflamasyon

Kronik enflamasyon terimi altı haftadan fazla süren bir enflamasyonu tarif etmek için kullanılmaktadır. Enflamasyonun neden devam ettiği her zaman bilinmemektedir. Kronik iltihaplanma, normal dokularda anormal bağışıklık reaksiyonları veya obezite gibi durumlardan dahi kaynaklanabilir. Zamanla, **kronik enflamasyon DNA hasarına neden olabilir** ve kansere yol açabilir. (77)

Kronik enflamasyonun nedenleri: (78)

- a-Yaralanma, kırık, incinme, yanık, doku hasarı, tahrişler, kesilme, içerden veya dışarıdan vücuda etki eden diğer faktörler (ülser, vb.),
- b-Şişmanlık,
- c-Hareketsiz yaşam tarzı, yaşlılık, egzersiz yapmamak,
- d-Dengesiz beslenmek; aşırı şeker, rafine ve işlenmiş gıdalar, glüten, trans yağlar ve doymuş yağlar tüketimi,
- e-Stres, serbest radikaller, depresyon, uykusuzluk, aşırı güneş alımı, elektromanyetik kirlilik,
- f-Gizli veya açık enfeksiyonlar, vücutta bulunabilen virüs, bakteri, küf, maya ve parazitler
- g-Kötü ve yetersiz diş bakımı ile ağız sağlığı,
- h-Gıda ve çevre kaynaklı toksik maddeler ile su, hava, toprak ve gıda kirliliği,
- i-Gıda ve çevre kaynaklı **allerjik maddeler**, mikotoksinler, **ağır metaller**, pestisitler,

j-Metabolik sendromlar; yüksek tansiyon ile yüksek kan şekeri trigliseritleri vücudumuzda enflamasyon olduğunun ve diyabet ile kalp hastalığı bakımından risk altında olduğumuzu göstermektedir.

Normal sağlıklı bir insanın vücudunda pro-enflamasyon molekülleri ve anti-enflamasyon molekülleri denge halinde bulunmaktadır. Kronik bir enflamasyonda pro / anti-enflamasyon dengesi bozulmaktadır.

Kronik enflamasyon varlığının belirtileri ise; (77)

- Ateş
- Titreme,
- Vücut ağrısı,
- Eklemde hissedilen ağrı,
- Kaslardaki ağrı ve sertlik hissi,
- Halsizlik ve yorgunluk,
- İştahsızlık,
- Karın ağrıları,
- Göğüs ağrıları,
- Cilt döküntüsü,
- Ağızdaki yaralar,
- Baş ağrıları,
- Uykusuzluk hali,
- Depresyon ve anksiyete hissi gibi ruhsal belirti,
- Kilo almak,
- Reflü, kabızlık, ishal vb. sindirim sistemi sorunlarıdır.

2.8. Savunma Bariyerleri

İmmünite kelimesi latinedeki “immunis = vergiden muaf” kelimesinden üretilmiştir ve konağın hastalıklara karşı gösterdiği direnci ifade etmek amacıyla kullanılmaktadır. (78)

İmmün sistem, bedenimizi hastalığa neden olan mikroorganizmalardan korumakla görevli olan savunma sistemidir. İmmün sistemi meydana getirenlerin en

başında B hücresi, T hücresi, doğal öldürücü (NK) hücreler ve fagositler gelmektedir. Bu hücrelerin üzerlerinde mikroorganizmaları ya da yabancı maddeleri tanımaya yarayan “reseptörler” vardır. Bu reseptörler, mikroorganizmalardaki antijenleri tanıma özelliği olan kilitler şeklinde düşünülebilir. Reseptörler ile antijenler buluşunca hücreler hareket haline geçer ve mikroorganizmalara karşı “savunma sistemi” aktive olur. (78)

İmmün sistem, bir canlıyı hastalıklara karşı koruyan, patojenleri ve tümör hücrelerini tanıyarak ortadan kaldıran işlemlerin bütünüdür. İnsan bedeni sisteme girmiş olan ya da kendiyle teması olan yabancı maddeyi değerlendirir ve maddeleri, vücudun sağlıklı hücrelerinden ve dokularından ayırır. İnsan vücudunda belirli zamanlarda meydana gelen normal olmayan molekül ve hücreleri belirleyip bu durumları cevaplamak; kanser benzeri hastalıkların gelişmesini engellemek, immün sistemin görevlerinden biridir. (79)

İmmünoloji, bugün enfeksiyon etkenlerine karşı bağışıklık olayına ilaveten, değişik bir bağışık yanıt sonunda ortaya çıkan alerjiler ve otoimmün hastalıkları da incelemekte olan bilim dalıdır. Bağışık yanıt (immün cevap), bir biyolojik olay olarak konağın, kendisine yabancı olan maddeyi tanıması ve buna karşı yanıt vermesi olarak tanımlanır. İmmün sistem kendi yapısını oluşturan hücre ve doku antijenlerine karşı immün yanıt vermez. İmmün sistemin en önemli özelliği, kendi ve kendinden olmayan antijenleri ayırt edebilmesidir. Hayvanlar aleminin her türü ve bireyi, kendisine yabancı olan canlı ve cansız maddeler ile sürekli savaş halindedir. Organizasyon düzeyi en basit hayvanlarda bile, kendi yapıtaşlarına yabancı molekülleri tanıma ve ayırt etme özelliği bulunur. Bireylerin yaşamlarını sürdürmeleri, immün sistemin bir fonksiyonudur. İmmün yanıtı oluşturan hücreler ve organların tümüne “*immün sistem*” adı verilir. (80)

İmmün sistemi oluşturan hücrelerde immün bellek özelliği ve yabancı maddelere, bir diğer adıyla immünojenlere karşı yanıtlama özelliği bulunur. Bir antijeni tanımanın ardından bağışık yanıt vermek sonrasında da ikinci kere aynı antijen ile karşılatıldığında onu unutmayı ve daha güçlü veya değişik bir bağışık cevap vermesi immünolojik bellek olarak tanımlanır. (80)

İmmün Koruyucular

Çevremizde çokça mikroorganizma yaşam sürmektedir. Bakteri ve virüs olarak bilinen mikroorganizmaların insan bedenince yabancı olarak değerlendirilmesine neden olan küçük maddelere “**antijen**” adı verilir. Antijenler, mikroorganizmaların fark edilmesinde “**anahtar**” görevini üstlenir. (78)

İmmün sistem, karşılaştığı mikro organizmalar (virüs, bakteri, mantar), parazit ve diğer oluşumlara karşı konağı üç aşamada savunur: (78)

- Yabancı madde varlığının fark edilmesi,
- Savunmanın sağlanması,
- Unutmamak ve hatırlamak üzere hafızasına kodlaması.

İmmün Tanıma (80)

İmmün tanıma olayında 3 molekül rol oynar:

1. Antikor molekülü (İmmünoglobulinler veya B hücrelerinden köken almaları nedeniyle BCR olarak tanımlanırlar),
2. T-hücre reseptörü (TCR=T-cell receptor),
3. MHC (Major Histocompatibility Complex) molekülleridir.

Kendinden olanın ve olmayanın tanınması (80)

Bir organizmanın bağışıklık sistemi; hemen hemen bütün yabancı antijenleri ya da antijen taşıyan hücreleri tanıyabilir ve ortadan kaldırabilir ancak organizmanın kendine ait hücrelerin yüzey proteiniyle yani vücudun “kendi” antijenleriyle yabancı antijenleri birbirine karıştırmaması gerekir.

İmmün Ayrıcalık

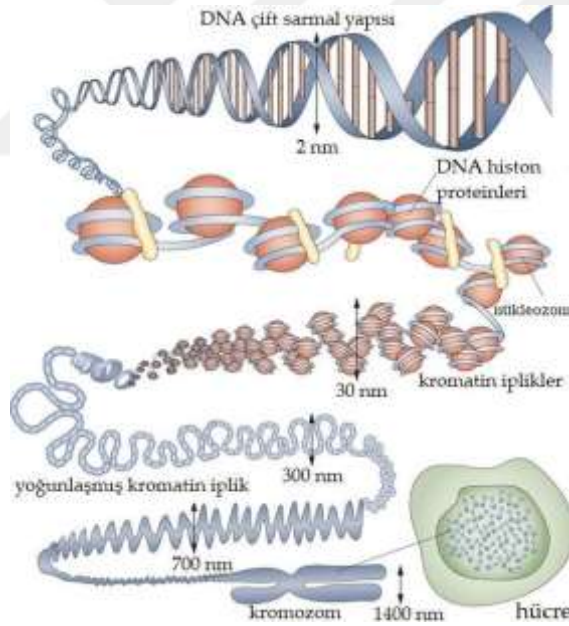
Vücuda giren her türlü yabancı virüs, bakteri gibi mikroorganizmalara ve tümör hücrelerine karşı immün yanıt geliştirilerek etken ortadan kaldırılmaya çalışılır. Bu immün çabanın sonucunda hücresel immün yanıt reaksiyonları ve enflamasyon olarak tanımlanan yangısal cevaptan dolayı, olayın gerçekleştiği dokularda nonspesifik hasar meydana gelir. Bazı organlar, bağışıklık yanıtından kaynaklanan bu hasarı tolere edebilirken, göz gibi organlar ise bunları tolere edemez. Bu tür organlarda, immün reaksiyonlardan kendilerini koruyan, koruma mekanizmaları bulunur ve bu nedenle de organlara “**immün ayrıcalıklı bölgeler**” denir. (80)

Antijene Karşı Primer ve Sekonder Antikor Cevapları

Bir insan veya hayvana, belli bir antijen ilk defa enjekte edildiğinde, antijenin niteliğine, dozuna ve veriliş yoluna bağlı olarak, 7-10 gün içinde serumda antikorlar belirmeye başlar. Antikor düzeyleri 1-10 hafta boyunca artarak maksimuma vardıktan sonra, aylar içinde azalır, hatta ölçülebilir düzeyin altına iner. (80)

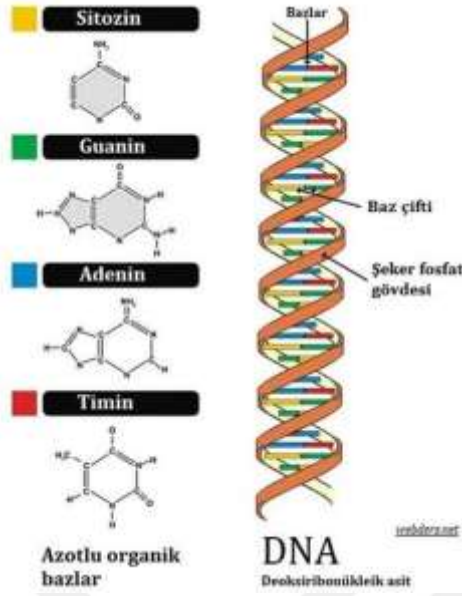
2.9. DNA

Genlerde, “**genetik bilgi**” adı verilen, kendinden sonra gelen nesile geçtiğinde soyun biçimine ve özelliklerine etki eden bir bilgi bulunmaktadır (81). 1944 yılına kadar açıklık getirilemeyen konulardan biri de kromozomlarda bulunan kimyasal birleşenlerden hangisinin gen ve genetik materyali oluşturduğuydu. Kromozomlar protein bileşenleri ve nükleik asit içermekteydi ve bunlardan herhangi biri genetik materyal olabilirdi. DNA’nın kalıtımla ilgili bilgiyi taşıyan kısmının nükleik asit olduğu 1944 yılında direkt ve deney yoluyla kanıtlanmıştır. (81)



Şekil 6: Hücre ve gen. (82)

DNA (Şekil 6) canlılara özgün (cansızlarda olmayan) bir moleküldür. DNA molekülü karbon, hidrojen ve diğer birkaç çeşit “cansız” molekülden yeni bir canlıyı oluşturacak şifrelere sahiptir. Doğadaki biyolojik organizasyona baktığımız zaman canlının temel biriminin hücre olduğu görülür. Hücre ise çeşitli organik ve inorganik moleküllerden meydana gelmiştir. (80)



Şekil 7: DNA'nın yapısı. (83)

Molekülün iki temel özelliği vurgulanmıştır; iki şerit üzerindeki baz dizilerinin tamamlayıcılığı ve polimerin çift sarmal doğası. Timine tamamlayıcı adenin ve sitozine tamamlayıcı guanin ile temel sekans tamamlayıcılığı, Avery, McCarty ve Macleod (84) tarafından tanımlanmıştır. Çift sarmallı DNA'daki A ve T ile G ve C bazlarının (Şekil 7) eşdeğerliğine ilişkin temel keşfini doğrulanmıştır (85). En önemlisi, DNA baz dizisindeki bilginin, tamamlayıcılık sayesinde iki özdeş kopyaya kopyalanabilme yeteneğine sahip olabileceğinden bahsediliyordu. Genetiğin temeline ilişkin bu kavrayış, son 60 yılda genetik anlayış ve manipülasyondaki muazzam ilerlemelerin temelini oluşturmuştur. (86)

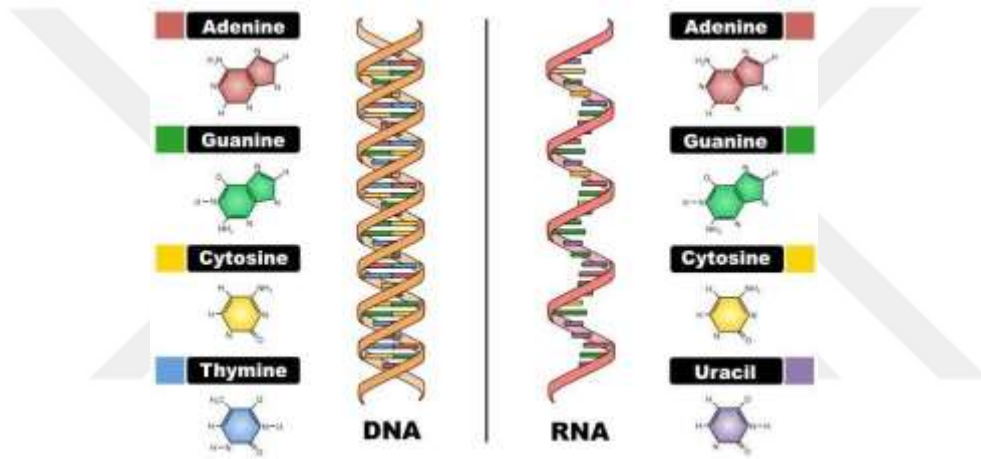
2.9.1. Gen Yapısı

Polipeptit gibi fonksiyonel bir ürün ya da RNA sentezini moleküler anlamda gerçekleştiren DNA parçasına “**gen**” denir. Ökaryotik DNA’da kodlama yapmayan genler arası dizilerden başka gen içinde de kodlanmayan diziler vardır; yani gen, kodlama yapan (**ekzon**) ve yapmayan dizilerden (araya giren dizi / **intron**) oluşur (80).

2.9.2. Gen Ekspresyonu

DNA’da bulunmakta olan dNTP dizileri, organizmaların genetik yapılarını belirler. RNA’lar aracılığıyla bu bilgi ifade edilmesine **protein sentezi** denir. (81) Temel yapı itibarıyla RNA, DNA’ya çok benzer. DNA ile RNA’nın moleküler farkı, şekerlerinin deoksiriboz yerine riboz olması, bazlardan guanin, adenin, sitozin aynı

olduğu halde timin yerine urasil bulunması ve DNA çift iplikli olduğu halde RNA'nın tek iplikli olmasıdır. Ancak uzun zincirler halindeki bazı RNA moleküllerinin yer yer kendi üzerlerine kıvrılarak çift sarmallı bölgeler meydana getirdiği de bilinmektedir. Hücrede üç çeşit RNA vardır; mRNA, rRNA ve tRNA. DNA kodunun kopyalanması, haberci RNA (mRNA) denilen özel bir RNA ile olur. (80) Gen ekspresyonu **transkripsiyon** işlemi ile başlar. Bu işlem, haberci RNA (mRNA) molekülünün senteziyle başlamış olur. Transkripsiyon olayında DNA'nın çift sarmalından bir tanesi kalıp şeklinde kullanılarak belirli bir bölümü kopyalanmaktadır. **Gen ekspresyonu**, transkripsiyon ve translasyon işlemlerinin bütününe verilen isimdir (81) (Şekil 8)



Şekil 8: Gen Ekspresyonu (transkripsiyon ve translasyon işlemi). (87)

Transkripsiyonda, replikasyonda olduğu gibi önce, DNA ipliği çözülür (102). Ökaryotlarda üç RNA polimeraz işlev görür; RNAP I, II ve III. Protein kodlamanın transkripsiyonu, RNAP II tarafından katalize edilir. RNAP II, transkripsiyonu başlattıktan kısa bir süre sonra, yeni oluşan RNA, 5 'ucuna bir başlık (cap) yapısının eklenmesiyle modifiye edilir. Bu başlık başlangıçta yeni transkripti nükleazların saldırısından korumaya hizmet eder ve daha sonra olgun mRNA'nın sitoplazmaya aktarılması ve proteine çevrilmesinde rol oynayan proteinler için bir bağlanma yeri olarak hizmet eder. (88)

Kapatma işlemi, RNAP II'nin RNA sentezini başlattığı transkripsiyon "başlatma" ile polimerazın gen dizisi boyunca 5 'ila 3' hareket ettiği ve transkripsiyon "uzaması" arasındaki geçişi düzenleyerek erken transkripsiyon olaylarını koordine

ediyor gibi görünmektedir. Transkripsiyonun uzama fazı, bir uzama faktörleri ailesi tarafından düzenlenmeye tabidir. Gendeki (eksonlar) kodlama dizileri genellikle uzun kodlamayan dizilerle (intronlar) kesintiye uğrar ve bunlar pre-mRNA ekleme ile çıkarılır. Bir genin sonuna ulaşıldığında, RNAP II, transkripsiyonu (sonlandırma) durdurur, yeni sentezlenen RNA bölünür (bölünme) ve transkriptin 3' ucuna bir poliadenozin [poli (A)] kuyruğu eklenir. (88)

Gen transkripsiyonunda, kodlayan dizinin 5' ucunda yer alan kromozomal DNA'da bulunan başlangıç bölümüyle başlayarak kromozomda intron ve ekzonlar boyunca sürmektedir. Primer RNA transkriptinin 5' ve 3' modifikasyonlarından introna karşılık gelen kısımlarının atılmasının (splicing) ardından ekzona karşılık gelen kısımlar bir araya getirilir. (89) (Şekil 8)

Transkripsiyonda da DNA sentezine benzer şekilde RNA sentezi 5' → 3' yönünde yol alır.

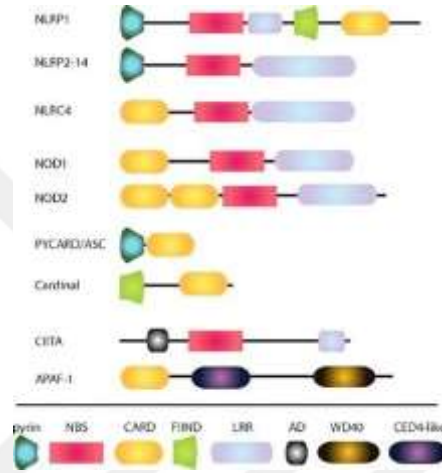
Primer RNA transkripti, 5' ucuna kimyasal bir başlık (cap) yapısının eklenmesi ve kodlayan bölgenin sonunda yer alan özgül noktadan 3' ucunun kesilmesiyle işlenmektedir. Bu kesilme olayını, RNA'nın stabilitesini artıran polyA kuyruğunun 3' ucuna eklenmesi izler. Poliadenilasyon bölgesi çoğunlukla RNA transkriptinin 3' ucunda yer alan ve proteine çevrilmeyen bölümde konumlanır. Kodu kopyalayan mRNA çekirdekten sitoplazmaya geçer ve protein yapım işlemi başlar. (90)

Genlerin son ürünü olan protein polimeri insan vücudunda 20 farklı çeşidi bulunan aminoasit monomerlerinden oluşur. mRNA molekülündeki üçlü nükleotit baz dizisinden oluşan genetik kod, DNA'da depolanan bilgiyi yansıtır ve protein zincirine dahil olması gereken özgül aminoasitin girişinin belirlenmesini sağlar. Transkripsiyonla (Şekil 8) RNA'ya kopyalanan ve protein polimerinin genetik bilgileerinin okunması ya da protein polimeri haline dönüştürülmesine “translasyon” (Şekil 8) adı verilir. Bu işlemler, moleküler genetiğin santral dogmasını oluşturur. (81)

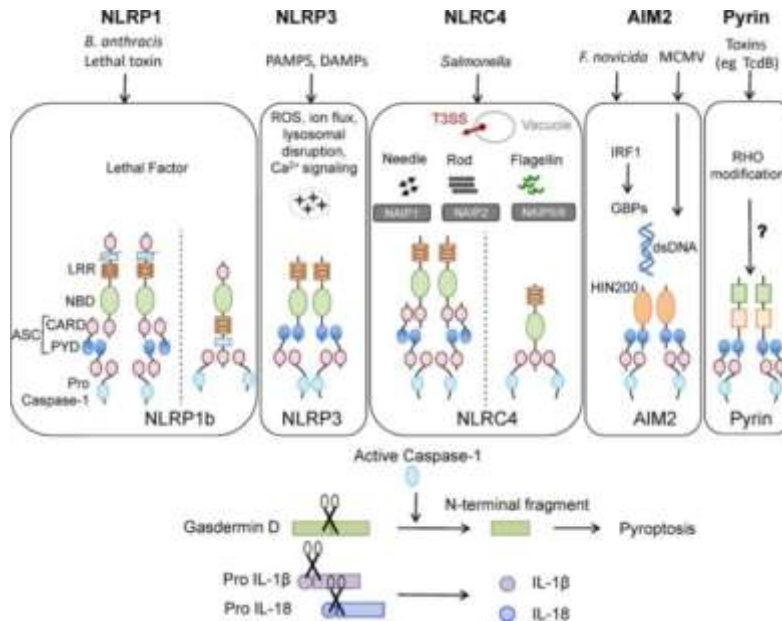
2.9.3. İnflamazom ve Tipleri

“**İnflamazom**”, enfeksiyona sebep olan konak proteinlerinden oluşan moleküllere ve mikroorganizmalara karşı enflamasyonun başlamasından ve “**kaspaz-1 aktivasyonu**”nun düzenlenmesinde vazifeli olan **doğal bağışıklık sistemi elemanıdır**. Reseptör, adaptör ve efektör proteinler “**sitozolik çoklu protein kompleksi**”ni oluşturur (Şekil 9). Ortaya çıkan komplekste Nod-benzeri reseptör

protein ailesinden “**NLRP1, NLRP2, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRC4**” proteinleri, HIN-200 protein ailesi üyesi “**AIM2**” ve son yıllarda yapılan çalışmalarda gösterilen “**Pyrin**” reseptör görevi görmektedir (Şekil 10). Burada, “**apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD domain (ASC) adaptör**” protein amaçlı işlev görürken, “**kaspaz-1**” efektör protein rolü almaktadır. Bu protein kompleksinin ortaya çıkmasının ardından inaktif olan “**pro-IL-1 β ve pro-IL-18 sitokinler**”i kesime uğraması sonucu olgun ve biyoaktif formu olan “**IL-1 β ve IL-18**” olarak açığa çıkmaktadır. (91)



Şekil 9: İnflamazom moleküllerinin şematik yapısı. (92)



Şekil 10: İnflamazom komplekslerinin yapısı. (91)

Kaspaz-1, ayrıca Gasdermin-D olarak bilinen bir sitozolik proteini proteolitik olarak aktive eder ve bu kesimden elde edilen amino-terminal fragmanı daha sonra sitoplazmik membran gözeneklerini oluşturur. Gasdermin'in aktivasyonunun hücre zar bütünlüğü kaybına neden olduğu için piroptoz olarak bilinen hücre ölüm süreci başlamış olur. Apoptozdan (klasik programlanmış hücre ölümü) farklı olarak, piroptoz, protein HMGB1 gibi proinflamatuvar hücre içi bileşenlerin ortaya çıkmasına neden olur ve bu da yakın hücrelerde daha fazla enflamasyon sinyalinin üretimine neden olur. (93)

Tablo 1: NLR aile üyeleri (94)

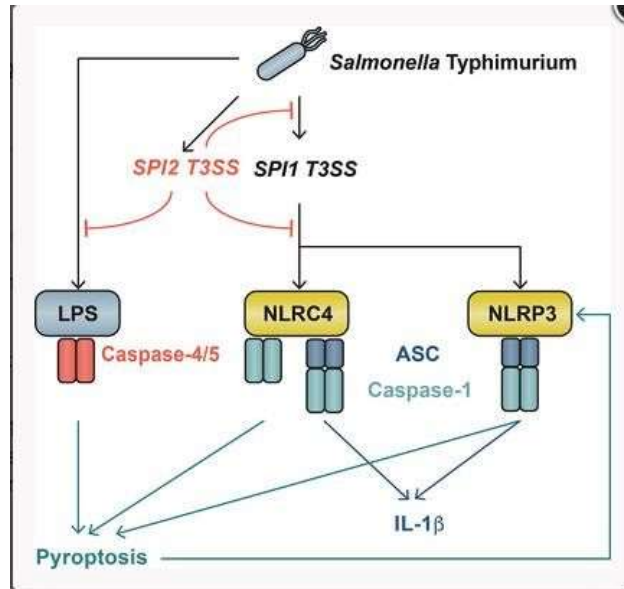
NLR family	Human symbol	Mouse symbol	Structure
NLRA	<i>CITA</i>	<i>Cita</i>	
NLRB	<i>NAIP</i>	<i>Naip1-7</i>	
NLRC	<i>NOD1</i>	<i>Nod1</i>	
	<i>NOD2</i>	<i>Nod2</i>	
	<i>NLRC3</i>	<i>Nlrc3</i>	
	<i>NLRC4</i>	<i>Nlrc4</i>	
	<i>NLRC5</i>	<i>Nlrc5</i>	
NLRP	<i>NLRP1</i>	<i>Nlrp1 a,b,c</i>	
	<i>NLRP2</i>	<i>Nlrp2</i>	
	<i>NLRP3</i>	<i>Nlrp3</i>	
	<i>NLRP4</i>	<i>Nlrp4 a,b,c,d,e,f,g</i>	
	<i>NLRP5</i>	<i>Nlrp5</i>	
	<i>NLRP6</i>	<i>Nlrp6</i>	
	<i>NLRP7</i>		
	<i>NLRP8</i>		
	<i>NLRP9</i>	<i>Nlrp9 a,b,c</i>	
	<i>NLRP10</i>	<i>Nlrp10</i>	
	<i>NLRP11</i>		
	<i>NLRP12</i>	<i>Nlrp12</i>	
	<i>NLRP13</i>		
	<i>NLRP14</i>	<i>Nlrp14</i>	
NLRX	<i>NLRX1</i>	<i>Nlrp1</i>	

İnsanlarda 23 NLR ailesi üyesi ve farelerde en az 34 *NLR* geni vardır (Tablo 1). NLR'ler, immün hücreler ve epitel hücreleri dahil birçok hücre tipinde eksprese

edilir, ancak belirli NLR ailesi üyeleri, esas olarak makrofajlar ve nötrofiller dahil olmak üzere fagositlerde eksprese edilir. NLR'ler, aktivasyon için kritik olan merkezi olarak konumlandırılmış bir NOD olan kaspaz alım alanı (CARD), pirin alanı (PYD), asidik alan veya bakulovirüs inhibitör tekrarlarından (BIRs) oluşan değişken bir N-terminal efektör bölgesinden oluşan çok alanlı proteinlerdir. PAMP'leri algılayan C-terminal lösin açısından zengin tekrarlar (LRR'ler). NOD alanı (NACHT kaseti olarak da adlandırılır), AAA+ adenosin trifosfatazlar (ATPaslar) ailesinde bulunan oligomerizasyon modülü ile yakından ilgilidir. (95) Walker'ın Nod1 ve Nod2 proteinlerinin A ve B kutularındaki korunmuş kalıntıların mutasyonu, nükleotid hidrolizinin protein aktivasyonu için gerekli olduğunu gösteren sinyalleme kaldırılmıştır (96). Sürekli olarak saflaştırılmış NLRP3 ve NLRP12, adenosin trifosfatı (ATP) bağlar ve ATPaz aktivitesi gösterir (97,98). Bununla birlikte, NLR proteinlerinin düzenlenmesinde ATP hidrolizinin kesin moleküler işlevi bilinmemektedir.

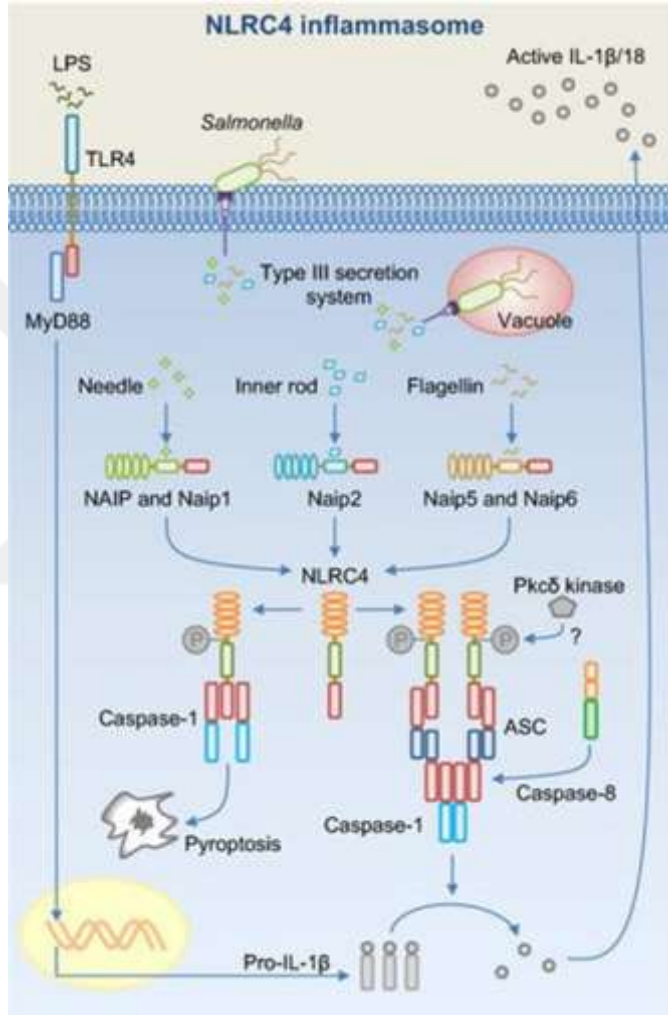
NLRC4 Genetiği

NLRC4 İnflamazomu ve İşleyişi: NLRC4 (NLR family CARD domain-containing protein 4) aktivasyonunun, enflamasyonla olan ilişkisine dair ilk bulgular (Şekil 11), NLRC4 içermeyen sıçan makrofajlarının, *Salmonella Typhimurium*'a maruz kaldıktan sonra kaspaz-1 aktivasyonunun gerçekleşmediğinin gösterilmesiyle elde edilmiştir (99).



Şekil 11: NLRC4 inflamazom sisteminin mikroorganizmayla uyarılması. (100)

NLRC4 inflamazomunun oluşumu, inflamazomlar arasında en kapsamlı olanıdır. NLRC4 inflamazomu, tetikleyici (örn. sitozolik flagellin), sensör (NAIP), nükleatör (NLRC4), adaptör (ASC) ve efektörün (kaspaz-1) bir araya gelmesiyle oluşmaktadır (Şekil 12). NLRC4 inflamazomunun farklı uyarılara özgül cevap oluşturması sebebiyle, inflamazom aktivasyonu, regülasyonu ve fonksiyonunu anlamada oldukça önemli bir inflamazom tipi olduğu düşünülmektedir. (101)



Şekil 12: NAIP-NLRC4 inflamazomunun aktivasyonu. (102)

Organizmaya ulaşan farklı türlerdeki tehlike sinyallerinin tamamının doğal immün sistem tarafından tanınması, çeşitli reseptörler aracılığı yoluyla olmaktadır. Doğal immün sistem tarafından verilen cevapların başlatılmasında görevli olarak bahsedilen reseptörler, kalıp tanıma reseptörleri olarak adlandırılmakta olup; bu

reseptörlerin her biri farklı bir reseptör ailesini tanımlayan 5 alt gruba ayrılmaktadır: (103,104)

1. Toll-benzeri reseptörler (Toll-like receptors, TLR)
2. NODbenzeri reseptörler (NLR)
3. C-tipi lektin reseptörleri (C-type CLR)
4. Retinoik asit-indüklenebilir gen reseptörler (retinoic acid-inducible gene-I-like receptors, RIG-like receptors, RLR)
5. AIM-2 reseptörleri (absent in melanoma-2 benzeri reseptörler, AIM-2 like receptors, ALR).

C-tipi lektin reseptörleri ve Toll-benzeri reseptörler, hücre membranında yerleşim göstermekte ve ekstraselüler ortama gelen sinyallerin tanınmasında görev alırken, RIG benzeri, NOD-benzeri ve AIM-2 benzeri reseptörler ise hücre içi ortamda bulunmakta ve hücre içine gelen tehlike sinyallerinin olması durumunda aktivasyona uğramaktadır. (103,104)

Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı benzeri reseptörler ailesi, doğal immün sistemde birçok farklı patojen ve tehlike uyaranlarıyla aktive olabilen ve bunun sonucunda hem patojenle ilişkili hem de enflamasyon cevaplarının başlatılmasında rol oynayan önemli bir kalıp tanıma reseptör ailesidir (105). Hücre sitozolünde bulunan NLR, üç temel yapıdan oluşmaktadır: Karboksi terminalinde lösinden zengin tekrar yapısı (leucin rich repeat domain, LRR), merkezde nükleotid bağlayan oligomerizasyon yapısı (nucleotide-binding oligomerization domain, NACHT) ve amino terminalinde NLR alt tipine göre değişkenlik gösterebilen protein-protein etkileşim kısmı (104,105). Birbirinden farklı 4 alt tip NLR ailesinde (NLRA, NLRB, NLRC ve NLRP) tanımlanmıştır (104,105). Pirin yapısı taşıyan alt tipi NLRP'dir; inflamazom yapısı oluşturabilen ve bu açıdan fonksiyonları en çok aydınlatılmış en geniş NLR ailesidir (106).

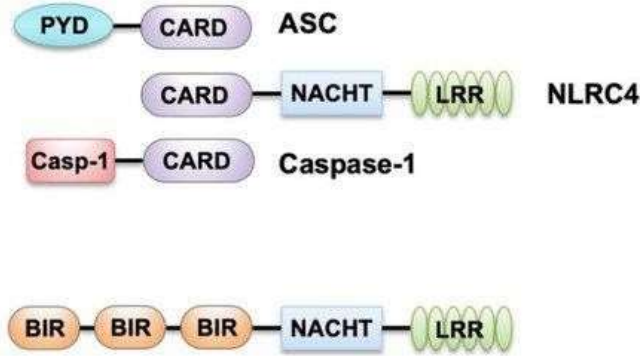
İnflamazom reseptör protein (NLR protein; NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRC4), adaptör protein (ASC containing a CARD domain) ve efektör (Kas-paz-1) proteinlerin bir araya gelmesiyle oluşur (107,108). İnflamazomlar, bulundurdıkları PRR yapısına göre adlandırılır ve işlev görürler. İnflamazomların 8 farklı tipi

(NLRP1, NLRP2, NLRP3, NLRP6, NLRP10, NLRP12, NLRC4 ve AIM2) mevcuttur (109), ilk tanımlanan inflamazom NLRP1'dir. (107,110,132)

2.9.3.1. NLRC4'ün Yapısal Özellikleri

Tüm NLR ailesi üyeleri gibi, NLRC4 de ortak bir, üç alan yapısını paylaşır: bir N-terminal homotipik etkileşim alanı, bir merkezi nükleotid bağlanma alanı ve bir dizi C-terminal LRR. NLRC4'ün homotipik etkileşim alanı, CARD (Kaspaz-Aktivasyon ve Alım Alanı) olarak bilinen ortak bir yapısal modele katlandığı tahmin edilen proteinin ilk 94 amino asitinden oluşur (Şekil 13). CARD tipik olarak hidrofobik bir çekirdek etrafında paketlenmiş 6 anti-paralel α -sarmalına katlanır. Merkezi Nükleotid Bağlanma Alanı, AAA + ATPazların süper ailesine girer ve diğer NLR proteinleriyle yapısal özellikleri paylaşır, bir çekirdek NTPaz alanı ve kanatlı sarmal alan (WD) olarak adlandırılan bir bölge tarafından kesintiye uğrayan iki sarmal etki alanı (HD1 ve HD2) dahil. NLRC4 C-terminal 440 amino asit, her biri lösin açısından zengin tekrarlar olarak adlandırılan kısa bir 8 ila 15 amino asit alfa sarmalına bağlı lösin açısından zengin bir beta ipliğine bağlı 15 tekrarlayan yapısal birimden oluşur. (111)

NLRC4 Inflammasome



Şekil 13: NLRC4 inflamazom yolağının komponentleri. (112)

N-terminal CARD alanından yoksun rekombinant fare NLRC4, yapının X-ışını kristalografik analizine izin vermek için yeterli miktar ve kalitede izole edildi. Bu monomerik proteinin, C-terminal LRR alanı ve Nükleotid Bağlanma Alanı arasında kapsamlı intramoleküler etkileşimlere sahip olduğu bulundu. Monomerik yapı, nükleotid bağlanma yeri (113) işgal eden ADP ile etkileşimler ile birlikte bu etkileşimler ile stabilize edilir. Bu grup ayrıca, ADP, H443'e yakın bir anahtar

kalıntının mutasyonunun, oligomerik NLRC4'ün kendiliğinden oluşmasına ve görünüşte iltihaplı aktivasyona yol açtığını gösterdi. İnsan *NLRC4*'ün çoğu fonksiyon kazanımı mutasyonları (aşağıda detaylı olarak tarif edilen H443 dahil) ADP bağlanma sahasının yakınında kümelenerek nükleotid bağlanmasının veya ATP hidrolizinin oligomerizasyon ve enflamazom aktivasyonu için gerekli konformasyonel değişikliklerin temel düzenleyicileri olduğunu gösterir. Buna uygun olarak, ATP bağlanma başarısız olur ve üzerinde ifade edildiğinde kaspaz-1 aktivasyonunu uyarmak için mümkün olan bir NLRC4 protein NBD sonuçların Walker bir motifi anahtar lizin mutasyon. (111)

NAIP2 ve T3SS iğnesi PrgJ ile birlikte ifade edilen NLRC4'ün iki çalışması, liganda bağlı NAIP'nin NLRC4 ile ilişkili olduğunu ve (şimdi açılmış) NLRC4 monomerlerinden oluşan disk benzeri yapılar oluşturduğunu ortaya çıkardı. Bu diskteki NLRC4 monomerleri, komşu NLRC4 moleküllerinin (114,115) zıt yüzleriyle kapsamlı intermoleküler temaslar yapar. Bu iki çalışma, aksi takdirde 11 kat simetri içeren bu oligomerik yapılarda tek bir NAIP'nin mevcut olduğunu gösterdi; tek bir NAIP'nin, 10 NLRC4 molekülünün bir tekerlek şekilli iltihaplanma halinde birleşmesini başlatabileceğini düşündürmektedir. NLRC4 kompleksleri üzerine üçüncü bir kriyo-EM tabanlı çalışma, NAIP5 ve Flagellin'in (FliC-D0_L) birlikte ifade edilmesiyle başladı) HEK293 hücrelerinde. Önceki kriyo-EM çalışmasının aksine, kapalı diskler (116) yerine sarmal olarak düzenlenmiş monomerlerden oluşan çubuk şeklinde oligomerler oluşturan NLRC4 içeren yapıları ortaya çıkardı. NLRC4'ün aktive edildiğinde kompleks oluşturup oluşturmayacağı, aktive edici ligand-NAIP protein kompleksine bağlı olarak oligomerik yapıda gerçek bir fark olup olmadığı veya bunlardan birinin veya her ikisinin aşırı ekspresyon artefaktını temsil etme derecesinin olup olmadığı açık değildir (115,117).

Her üç kriyo-EM çalışmasında, NLRC4 yapısı, monomerik NLRC4'ün X-ışını kristalografisi yapısına göre açılır. Bu açıklık, LRR ve merkezi Nükleotid Bağlanma Alanı arasındaki bir menteşe bölgesinde LRR alanının kabaca 90 derecelik bir dönüşü ile gerçekleştirilir. Bu dönüş, daha sonra yapıya eklenen bir sonraki NLRC4 monomerinin asidik bir yüzeyiyle etkileşime girebilen NBD'deki bir bazik amino asit yamasının yüzey lokalizasyonu ile sonuçlanır. (115,117) Dönüş ayrıca, önceden eklenen NLRC4 monomerinin LRR'si ile etkileşime girecek şekilde LRR'nin asidik

bir bölgesini konumlandırarak açık yapıyı stabilize eder. Bu şekilde, açılan NLRC4, oligomerik yapıya yeni NLRC4 monomerlerinin eklenmesini katalize edebilir. NAIP'nin açık yapısının, açık NLRC4 biriminde bulunanla benzer şekilde konumlandırılmış bazik artıklara sahip olduğu tahmin edilmektedir, ancak karşılıklı asidik yüzeyden yoksundur. Bu nedenle NAIP, enflamazom birleşimini başlatmak için tek bir NLRC4'ü angaje edebilir, ancak daha sonra bir birleştirici enflamazoma dahil edilemez, bu da oligomer başına bir NAIP ile sonuçlanır. Bu veriler aynı zamanda hiperaktif NLRC4'ün, insan otoinflamatuvar hastalığının patofizyolojisi ile ilişkili olarak NAIP olmadan oligomerizasyon ve inflamazom aktivasyonunu indüklemeye kabiliyetini de destekler (aşağıda tartışıldığı gibi). Bu çalışmalar, şu anda NLRP3, NOD2 veya diğer NLR proteinleri için mevcut olmayan benzeri görülmemiş bir yapısal ayrıntı düzeyi sunmaktadır. NAIP / NLRC4 oligomerleri için bu durumlar arasında meydana gelen çıkarılan yapısal değişikliklerin diğer NLR proteinlerinde geçerli olup olmayacağı bilinmemektedir. (118,119)

2.9.3.2. NLRC4 Etki Mekanizmaları

NLRC4 inflamazomunun aktivasyonunun, birkaç farklı host sinyal olayını aktive ettiği görülmektedir. NLRC4, CASP1 aktive edebilen potansiyel nükleotid bağlayıcı protein olarak ilk defa tanımlandı (120,121). CASP1'in ayrıca IL-18 (118,119) benzer proteolitik olgunlaşmasını gerçekleştirdiği bilinmektedir. Bu nedenle, NLRC4 aktivasyonunun sitokin sinyali üzerindeki etkileri, 1) pro-sitokin substratlarının varlığı / bolluğuna, 2) hem immün hem de immün olmayan hücrelerde IL-1 ve IL-18 reseptörlerinin ekspresyonuna ve 3) reseptör ekspresyon bölgesine (parakrin'e karşı endokrin) bağlıdır. CASP1, hücresel işlevi düzenleyebilen başka hücre içi hedeflere de sahiptir. CASP1, hedef hücrelerde (122) sterol metabolizmasında değişikliğe yol açan transkripsiyon faktörünün, sterol yanıt elemanı bağlayıcı protein-1 (SREBP1) proteolitik bölünmesini indükleyebilir. CASP1 ayrıca Gasdermin-D olarak bilinen bir sitosolik proteini proteolitik olarak aktive eder ve bu bölünmeden kaynaklanan amino-terminal fragmanı daha sonra sitoplazmik membran gözeneklerinde birleşir. (123) Günümüzde Gasdermin'in aktivasyonunun hücre zarı bütünlüğünde bir kayba neden olduğu ve nihayetinde piroptoz olarak bilinen hücre ölümü sürecini indüklediği bilinmektedir. Apoptozdan (klasik programlanmış hücre ölümü) farklı olarak piroptoz, yakındaki konakçı hücrelerde daha fazla inflamatuvar

sinyallemeye neden olan HMGB1 proteini gibi proinflamatuvar hücre içi bileşenlerin dökülmesine neden olur. Bu, aktive edilmiş sitokinlerin makrofajlardan salındığı mekanizma olabilir. Konakta enflamatuvar tepkileri indüklemenin yanı sıra, piroptoz, NLRC4 (124) aktive eden patojenlere elverişli hücre içi ortamı bozarak konak savunmasına da katkıda bulunur. (125)

Pro-sitokinlerin işlenmesine ve piroptozun indüklenmesine ek olarak, NLRC4'ün aşağı akışındaki CASP1 aktivasyonu, pro-inflamatuvar prostaglandin ve PGE2 ve LTB4 dahil lökotrienlerin hızlı üretimiyle sonuçlanır. Moltke ve ark. (125), flagellinden türetilmiş bir NAIP-NLRC4 aktivatörünün, kalsiyum bağımlı fosfolipaz A2 aktive ederek araşidonik asidi serbest bırakan peritoneal makrofajlarda kalsiyum akışını indüklediğini gösterdi. CASP1 aktivasyonu ile harekete geçirilen araşidonik asit, daha sonra lipoksijenazların etkisiyle siklooksijenaz-1 ve lökotrien biyosentezi yoluyla prostaglandin biyosentezine sağlar. CASP1'in araşidonik asit serbestleşmesine neden olan mekanizma ve bu mekanizmanın bir şekilde NLRC4 aktivasyonuna özgü olup olmadığı belirsizliğini korumaktadır. Proteomik çalışmalar, CASP1'in 1000 potansiyel protein hedefini tanımlamıştır; bu da yukarıda tartışılan (126) aşağı akış sinyal yolunun ötesinde, NLRC4-inflamazom aracılı CASP1 aktivasyonuna yanıt olarak ek aşağı akış sinyal olaylarının meydana gelebileceğini düşündürmektedir. (127)

NLRC4 aktivasyonunun bir başka benzersiz yönü, doğrudan CASP1 ile etkileşime girme yeteneğidir. NLRC4'ün CARD alanı, pro-CASP1'in CARD alanı ile etkileşime girerek NLRC4'ün proteazı doğrudan etkinleştirmesine izin verir. Bununla birlikte, NLRC4 ile indüklenen CASP1 aktivasyonu, ASC adaptörünün (bir CARD içeren apoptotik benek proteini) varlığıyla hücrelerde güçlendirir. ASC, bir pyrin alanı ve CARD alanından oluşur. Hem inflamazom aktivasyonu hem de apoptozun başlaması, bir hücrenin sitoplazmik ASC'sinin, apoptotik benek (127) olarak bilinen potansiyel olarak büyük bir çözünmez oligomere yoğunlaşmasına neden olabilir. *In vitro* montaj ASC fibrillerinin pirin alanlarından oluşan homopolimer helisleri sonucu gibi görünmektedir (128). Bu, ASC'nin CARD alanlarını yakınına getirir ve benzer bir polimerizasyona girmelerine izin verir, bu da pro-CASP1 CARD alanlarının polimerizasyonuna yol açabilir ve birçok pro-CASP1 molekülünün aktivasyonu ile sonuçlanabilir. NLRP3, NLRP1, PYRIN ve AIM2 dahil olmak üzere diğer önemli

enflamazom oluşturan proteinlerin tümü, kaspaz-1'i etkinleştirmek için ASC'ye ihtiyaç duyar. Aktive edilmiş NLRC4 ayrıca ASC ile birleşir ve *Salmonella* (129,130) tarafından aktivasyondan sonra ASC içeren Speck ile ortak lokalize olur. Bu bulgular, ASC'nin NLRC4 ile indüklenen CASP1 aktivasyonunu geliştirme yeteneği ile tutarlıdır. (130)

CASP1 aktivasyonu, NLRC4 ve diğer iltihap oluşturan proteinler arasında paylaşılan bir aşağı akış efektör mekanizması iken, NLRC4 için en az bir başka efektör proteaz tarif edilmiştir. NLRC4'ün pro-CASP8'i inflamazom kompleksine (130) kattığı kaydedildi. *Salmonella* enfeksiyonuna yanıt olarak CASP8 alımı ve aktivasyonu hem NLRC4 hem de ASC gerektirir. CASP8 aktivasyonu, pro-IL-1 β (130) işlenmesinde CASP1'in yerini alabilir gibi görünmektedir. Bununla birlikte, CASP1'den farklı olarak, CASP8 pro-apoptotik bir kaspazdır. CASP1 veya Gasdermin'in tükendiği hücrelerde, piroptozu önleyerek, NLRC4'ün *Salmonella* kaynaklı aktivasyonu CASP8'e bağlı apoptoz (131) sonuçlanacaktır.

2.9.3.3. Konak Savunmasında NLRC4

NLRC4, enterik patojenlere karşı savunmanın kritik bir bileşenidir (Şekil 14) (132).

Salmonella'ya yanıt olarak NLRC4 aktivasyonu, proteinin enterik patojenlere karşı savunmada önemli bir rol oynayabileceğini belirtti. Bu hipotezi daha da destekleyen, *Salmonella typhimurium* komensal bağırsak mikroplarının, CASP1 aktivasyonunu ve bağırsak makrofajlarında (132) NLRC4 yoluyla IL-1 β salgılanmasını indüklediği bulunmuştur. *Salmonella* PrgJ NAIP aktive ettiği bulunmuştur. NLRC4 inflamazom dahil olmak üzere diğer enterik patojenler bu T3SS İğne protein homologları, *Shigella flexneri* (MxiH) ve enterohemorajik *E. coli* (*EPR1*) da aktive NAIP1 bulunmuştur (133). İlginç bir şekilde, patojenik olmayan *E. coli*'den flagellin gibi komensal organizmalardan gelen ligandların, *Salmonella*'dan türetilmiş flagellin (134) karşılaştırıldığında NLRC4'ü zayıf bir şekilde aktive ettiği bulunmuştur. *Salmonella* enfeksiyonuna karşı savunmada NLRC4'ün bir rolü, NLRC4 farelerinin, *Salmonella* ile orogastrik tehdide karşı artan duyarlılık sergilediği, azalmış hayatta kalma ve artan sistemik bakteri yükleri (132,135) gösterdiği zaman açıkça gösterilmiştir. İlginç bir şekilde, bu fark farelere intraperitoneal olarak uygulandığında görülmedi. NLRC4 delesyonunun *Salmonella* enfeksiyonu sonuçları üzerindeki

etkisine benzer şekilde, kemirgen GI patojeni *Citrobacter rodentium* ile enfeksiyon, NLRC4 eksikliği olan hayvanlarda daha şiddetli olmuştur. NLRC4 ile orogastrik aşılama ile enfekte olmuş farelerde *C. rodentium* artışı bulunmuştur. *Citrobacter* benzer şekilde uygulandığında, WT farelere göre kalıcı kilo kaybı ve kötü kolon patolojisi izlenmiştir. (136) Bu çalışmalar, NLRC4 inflamazomunun bakteriyel enterik patojenlerin temizlenmesini kolaylaştırmada önemli bir rol oynadığını göstermektedir (135).

İlk çalışmaların çoğu hücre içi *Salmonella*'nın makrofajlar veya fagositik hücreler tarafından tanınmasına odaklanırken, son çalışmalar NLRC4 tarafından hem epitel hem de immün hücrelerde başlatılan çoklu savunma mekanizmalarının *Salmonella* ve muhtemelen diğer enterik patojenleri kısıtlamaktan sorumlu olduğunu göstermiştir. Birçok erken çalışma, NLRC4'ün IL-1 β sekresyonunu yürütme kabiliyetine odaklanmış olsa da, salgılanan bir IL-18 tuzak reseptörünü aşırı eksprese eden bir transgenik farenin, NLRC4 delesyonu (135) ile görülen orogastrik *S. typhimurium*'a artan duyarlılığı kısmen tekrarladığı bulunmuştur. Aynı şekilde NLRC4 *Salmonella* enfeksiyonunda erken kolonik iltihaplanma için gerekli olan bağımlı IL-18 salgısı aktive eden doğal öldürücü hücrelerdir. (136)

Giderek artan bir şekilde, hematopoetik olmayan NLRC4 enflamazom sinyalleme sinin, esas olarak bağırsak epitelinde, enterik bakteriyel enfeksiyonların kontrolünde bir rol oynadığını da takdir edebiliriz. Norlander ve ark., NLRC4 farelerini, kemik iliği ile yeniden oluşturma *Citrobacter rodentium* enfeksiyonunun (137) kontrolünü geri getirmedeğini gösterdi. Kemik iliği transplantasyonunu kullanan bu gözlemler daha sonra dokuya özgü gen nakavt deneyleriyle desteklenmiştir. Sellin ve ark., fare bağırsağı epitelinde *Naip1-6*'nın dokuya özgü silinmesinin *Salmonella*'nın artmasına neden olduğunu gösterdi. Spesifik olarak, *Salmonella* ile enfekte enterositlerin bağırsak lümenine çıkarılması, NAIP proteinlerinin (138) bağırsak ifadesine bağlıydı. NLRC4 ile daha sonra yapılan çalışmalar, enfekte enterositlerin atılmasının hem *in-vivo* hayvan çalışmaları hem de bir birincil hücre organoid sistemi (139) kullanarak NLRC4'e dayandığını gösterdi. Peritoneal makrofajlarda olduğu gibi (125), NLRC4 bağımlı enterosit atılmasına eikosanoid üretimi eşlik etti. Dikkat çekici bir şekilde, enterosit ölümü ve çıkarılması tamamen CASP1 gerektirmedi, bu da NLRC4 ile indüklenen, CASP8 aracılı bir hücre ölüm programının patojenle enfekte

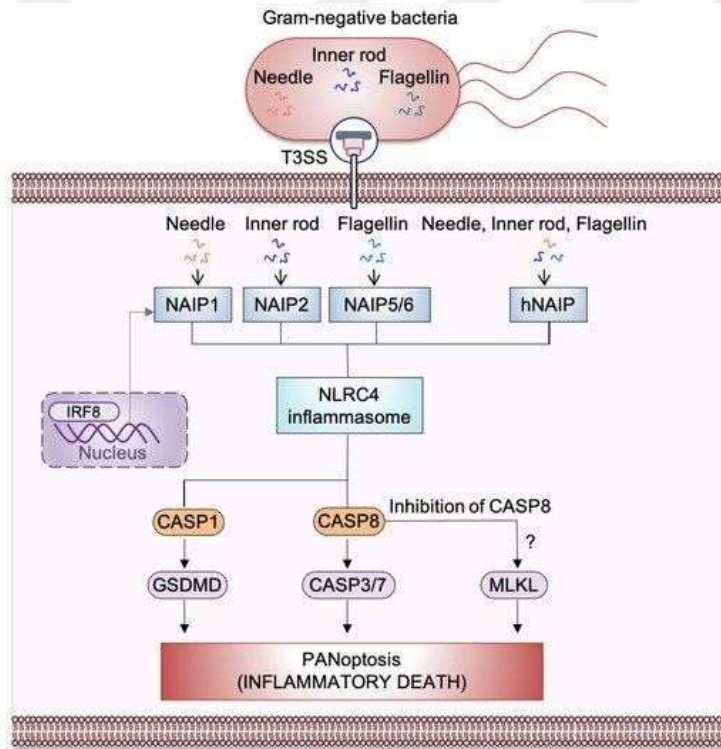
enterosit atılmasına da katkıda bulunduğunu gösterdi. Bu çalışmalar birleştirildiğinde, NAIP-NLRC4 enflammasomunun hem epitel hem de bağışıklık kompartmanlarında bakteriyel patojenlerin neden olduğu enterik enfeksiyonu kontrol etmede önemli bir rol oynadığını göstermektedir. (140)

NLRC4'ün in vivo fare araştırmasının üstünlüğü, enterik enfeksiyonlara veya enterik patojenlere hücrel yanıtla odaklanmış olsa da, enterik olmayan patojenlerle mücadeledeki rolünü inceleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ek olarak, enfeksiyöz olmayan NLRC4 uyaranlarının in vivo kullanımı, akut sistemik enflamasyon ve Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) fizyolojisi ile ilgili bazı şaşırtıcı bulgulara ulaşılmıştır. (140)

NLRC4'ün sitozolik flagellin veya bileşenleri T3SS tarafından aktive edilen NAIP proteinlerine sağlam tepkisi göz önüne alındığında, bir dizi enterik olmayan bakteri tam tanıma için NLRC4'e ihtiyaç duyar. *Listeria monocytogenes*, makrofajlarda birden fazla inflamazomu tetikler, ancak hücreler ilk olarak LPS (140) ile hazırlanmadıkça inflamazom aktivasyonu için NLRC4 gerektirir. Benzer şekilde, *Pseudomonas aeruginosa* peritoniti, NLRC4 inflamazomu flagellini bağımsız bir şekilde (141) tetikler ve NLRC4, *Klebsiella pneumonia* (142) gibi kamçı olmayan bakterilerle akciğer enfeksiyonundan koruyabilir. *Salmonella* gibi enterik patojenlerde olduğu gibi, *Burkholderia pseudomallei* gibi pulmoner patojenlerhem NLRC4 hem de NLRP3 iltihaplarını tetikleyebilir ve her ikisi de tam koruma için gereklidir (143). Bu enterik olmayan patojenler yine de NLRC4'ü *Salmonella* ve *Shigella* gibi klasik NLRC4'ü aktive eden enterik patojenlere benzer mekanizmalar yoluyla tetikler; flagellin veya NAIP proteinleri tarafından bakteriyel T3SS bileşenlerinin saptanması yoluyla. Bununla birlikte, bazı bakteriler, yani hücre içi riketsiyal patojen *Anaplasma phagocytophilum*, Siklo-oksijenaz 2 (COX2) aracılı prostaglandin sentezine bağlı bir mekanizma aracılığıyla, bu PAMP'lerin ekspresyonu olmadan makrofaj NLRC4 aktivasyonunu indükleyebilir. (125,144)

Maltez ve ark. yakın zamanda, her yerde bulunan hücre içi bakteri *C. Violaceum* ile enfeksiyondan sonra NLRC4 enflamasyon aktivasyonunun sonuçları için tamamlayıcı rolleri incelediler. Kleransı *C violaceum* karaciğerden bakteriyel açıklık NK hücrelerinde, uygun sitotoksi yaratmak için, IL-18 NLRC4 odaklı gerekli ise dalak, sadece pyroptosis gereklidir. (145) Bu grubun hangi mekanizma ile ilgili

vardı c. violaceum ve benzeri hücre içi bakteriler, sitokin üretimi yokluğunda dalaktan temizlendi. Bu neden enfekte makrofajlar içinde bu inflamazom aktivasyonunu tespit CASP1 bağımlı fakat IL-1 β ve IL-18 bağımsız Pyroptosis ilişkili hücre-içi tuzakları (çukurlar). (146) PIT'ler, hücrel ve nükleer membranları bozulmuş şişmiş makrofajlardan ve sınırları içinde hapsolmuş hücre içi bakterilerden oluşuyordu. Bu PIT'ler, aktifleştirilmiş nötrofiller tarafından kolayca alındı ve yakalanan bakteriler daha sonra nötrofil NADPH-oksidad aktivitesi (146) temizlendi. Bu mekanizma, NLRC4 enflamasyonlarını tetikleyen güç üreyen hücre içi bakterilerin temizlenmesinde özellikle önemli olabilir (147).



Şekil 14: NLRC4 inflamazomu ve Caspas sistemi. (112)

NLRC4 aktivasyonu ve prostaglandin sentezi arasındaki bağlantı, *von Moltke ve ark.* tarafından dramatik bir şekilde açıklandı. Bu grup, flagellin monomerlerinin sitosolik dağıtımının in vitro olarak makrofaj NAIP5 / NLRC4 inflamazomunu sağlam ve spesifik bir şekilde aktive edebileceği gerçeğinden yararlandı. Sistemik olarak flagellinin hücre içi olarak verilmesini sağlayan bir füzyon proteini (FlaTox) eklediler ve ani ve ölümcül bir "eikosanoid fırtınası" başlattılar. Enjekte edilen fareler, yerleşik

peritoneal makrofajlarda NAIP5-NLRC4-CASP1 enflammasomunun yanı sıra Fosfolipaz A2 ve COX1 aktivitesine bağlı olan hızla ölümcül vasküler sızıntı geliştirdi. Önemli olarak, bu yanıt IL-1 β ve IL-18'den bağımsızdı. (136) Daha sonra, bu grup FlaTox'u özellikle bağırsak epitel hücrelerinde ifade etti ve sonuçta sitokin üretimi ve hücre ölümü, daha önce tartışıldığı gibi hem CASP1 hem de CASP8'in ikili etkilerini gerektirdi (147).

NLRC4'ün murin makrofajlarında ve bağırsak epitel hücrelerinde eksprese edildiği ve aktif olduğu açık olmasına rağmen, nötrofillerdeki ekspresyonu ve rolü tartışmalıdır. Bazı hücre içi enfeksiyonlarda (*Burkholderia* gibi) veya immün ayrıcalıklı bölgelerde (kornea gibi), NLRC4 inflamazomunu tetikleyebilen patojenler bunun yerine NLRC4 (143,148) bağımsız olarak IL-1 β 'nin nötrofil üretimini yönlendirir. Aksine, *Chen ve ark. Salmonella* (149) uygun klirensinde, nötrofil hücre ölümünün yokluğunda, uzun süreli IL-1 β üretiminde nötrofil NLRC4 için spesifik bir fonksiyon gösterdi. (150)

2.9.3.4. NLRC4 İnflamazomu İle İlişkili Hastalıklar

NLRC4'ün sıçangil konakçı savunmasındaki rolü detaylandırılmaya devam etmektedir. Benzer şekilde, insan NLRC4 hücre içi bakteriyel enfeksiyonun *in vitro* tespiti ve temizlenmesi için açıkça önemlidir ve tek insan NAIP'nin farklı izoformları, hem T3SS çubuk proteinlerini hem de flagellin (150) tespit edebilmektedir. Bununla birlikte, modern çağda bu patojenlerin insan konakçılardan temizlenmesi için NLRC4'ün ilgisi daha az gelişmiştir ve NLRC4 fonksiyon kaybı (veya bu konuda herhangi bir iltihaplı bileşen) ile ilgili immün yetmezlik tarif edilmemiştir (151).

Araştırmacılar giderek artan bir şekilde, insan otoenflamasyonunu tetiklemede NLRC4'ün önemli rolünü keşfediyorlar. Otoenflamasyon, enfeksiyon, malignite veya antijene özgü otoimmüniteye atfedilemeyen sistemik veya organa özgü enflamasyon kavramıdır. (151) Otoinflamatuvar paradigma başlangıçta spontane veya artmış enflamasyon aktivitesinin monojenik bozuklukları etrafında şekillendi ve bu bozuklukların çoğunun IL-1 β blokajına dramatik tepkisi ile güçlendirildi. Kavram, doğuştan gelen bağışıklık yollarının düzensizliği ve hiperaktivitesinden kaynaklanan şaşırtıcı sayıda hastalığı içerecek şekilde çiçek açmıştır. (151) İnflamazom hiperaktivite bozuklukları (inflammasomopatiler), ilk tanımlanan otoinflamatuvar

hastalıkların çoğunu simgeliyordu, ancak bu tür enflamasyonun çok ötesine geçti (147,152).

Sırasıyla PYRIN ve NLRP3 inflammasomları ve ilgili inflammasomopatiler FMF ve CAPS (Cryopyrin-İlişkili Periyodik Sendromlar) üzerinde on yıldan fazla süren yoğun araştırmanın ardından, NLRC4 ile ilişkili hastalığın ilk tanımı 2014 yılında geldi. İki grup bağımsız olarak ve aynı anda tanımlandı. İnfantil enterokolit sendromu ve tekrarlayan Makrofaj Aktivasyon Sendromu (147,152) nedeni olarak NLRC4'te kazanç-fonksiyon mutasyonları. İşlevsel olarak, bu mutasyonlar, kendiliğinden / artmış makrofaj iltihaplanma aktivitesi ile FMF ve CAPS mutasyonlarında görülenlerle aynı değişiklikleri indükledi. Bir NLRC4-MAS hastası, IL-1 inhibisyonuna önemli yanıt gösterdi. (153)

Üç madde, NLRC4 inflammasomopatisini PYRIN ve NLRP3 inflammasomopa, yoğun ateş, düşük periferik hücre sayısı, hepatobiliyer disfonksiyon, koagülopati, dramatik tilerden ayırmaktadır ve bu özellikler sonraki raporlarla büyük ölçüde doğrulanmıştır. İlk olarak, Makrofaj Aktivasyon Sendromu (MAS), FMF ve CAPS'ın bir özelliği değildir. MAS olarak yükselmiş serum ferritin ve hemofagositozun yaşamı tehdit eden bir sendromudur. (153) Bir hastada MAS özellikleri uteroda başladı ve plasental tromboz, erken doğum ve perinatal ölümle sonuçlandı (154). Bu nedenle MAS klinik olarak, tipik olarak bir immün yetmezlik olarak kategorize edilen bozulmuş granül aracılı sitotoksitenin neden olduğu bir bozukluk olan ailesel Hemofagositik Lenfositosis (fHLH) çok benzer. MAS tipik olarak romatizmal hastalıkları, özellikle sistemik Juvenil İdiyopatik Artrit (sJIA) ve Yetişkin Başlangıçlı Still Hastalığı'nı (AOSD) karmaşıktırır. NLRC4 ile ilişkili hastalık açıklama önce, MAS çok nadiren inflammasomopathy veya otoenflamasyon daha genel olarak ilişkili olan. (155) Böylece, NLRC4 nihayet MAS olarak bilinen bir hiperinflamatuvar SIRS alt tipi aracılığıyla otoenflamasyon ve Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) arasında açık bir bağlantı sağladı. (156,157)

İkinci olarak, tarif edilen NLRC4-MAS hastalarında periferik IL-18'in olağanüstü ve kronik yükselmesi vardı. Hem IL-1 β hem de IL-18 miyeloid hücrelerde eksprese edilmesine ve olgunlaşmaları için enflamazom aktivitesi gerektirmesine rağmen, NLRC4-MAS'ın keşfinden önce, ne sitokin, inflammasomopati hastalarının serumunda büyük miktarda ölçülmemiştir. Buna karşılık, sJIA ve AOSD'li hastalarda,

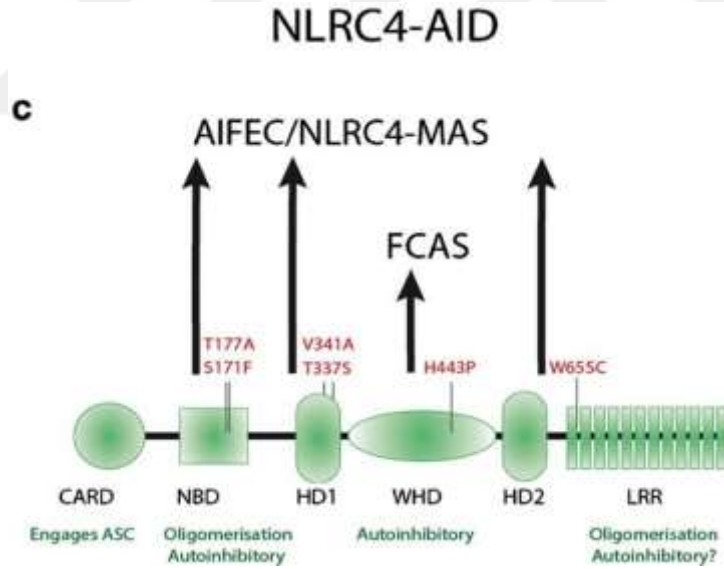
özellikle MAS (156,157) geliştirenlerde aşırı yüksek IL-18 seviyeleri tespit edildi. Bu nedenle, NLRC4 hem bir inflammasomopati hem de MAS'ın bir nedeni olsa da, çok yüksek IL-18 seviyelerinin yalnızca ikincisi ile ilişkili olduğu görülmektedir. İlginç bir şekilde, NLRC4 ve IL-18 arasında MAS'dan uzak bir ilişki için genetik kanıt vardır: IL-18'deki küçük yükselmeler, uzun süredir daha kötü kardiyak sonuçlarla ilişkili olup, Genom Çapında Birlik Çalışmasında (GWAS) bir NLRC4 polimorfizmi ile ilişkilendirilmiştir. (158)

IL-18'in kaynaklarına ilişkin çok az bilgi sağlamasına rağmen, bir biyobelirteç olarak zorlayıcı rolü, terapötik bir hedef olarak rolüne olan ilgiyi artırmıştır. Spesifik olarak, IL-1 blokajı dahil olmak üzere agresif tedaviye yanıt vermeyen şiddetli NLRC4-MAS'a sahip bir bebek, IL-18 blokajı eklendiğinde sonuçta akut ve dramatik bir yanıt gösterdi. (159) Bu, eksojen rekombinant IL-18 bağlayıcı proteinin (IL-18BP) uygulanmasıyla başarıldı. Benzer şekilde, NLRC4-MAS'lı başka bir bebek, üretimi IL-18 (160) tarafından indüklenen fHLH'de yer alan bir sitokin olan Interferon- γ 'nin bloke edilmesine iyi yanıt vermiş olabilir.

Üçüncüsü, NLRC4 hiperaktivitesi ile ilişkili infantil enterokolit, hem otoinflamatuvar hastalıklar hem de çok erken başlayan İnflamatuvar Bağırsak Hastalığının (VEO-IBD) diğer nedenleri arasında farklıdır. Tanımlanan NLRC4 ile ilişkili enterokolit vakalarının tümü, her zaman neonatal (147,152,154,159) olmasa da, bebeklik döneminde erken ortaya çıktı. Enflamasyon mideden kolona kadar bağırsağın tamamını kapsayabilir, ancak daha hafif etkilenen hastalarda birincil olarak duodenal enflamasyon görülmüştür. En çarpıcı şekilde, bebeklik döneminde hayatta kalan hastalardaki gastrointestinal hastalık, MAS nöbetleri devam etmesine ve serum IL-18 seviyelerinin oldukça yüksek kalmasına rağmen, büyük ölçüde ortadan kayboldu (147,152,159) Murin NLRC4'ün bağırsak konakçı savunmasındaki olağanüstü rolü bağlamında, bu gözlem NLRC4, IL-18 ve bağırsak mikrobiyal ve immün homeostazının olgunlaşmasının karmaşık bir etkileşimini göstermektedir. (161)

MAS ve enterokolit, NLRC4 ile ilişkili hastalığın en dramatik klinik belirtileri olmasına rağmen, diğer daha tipik otoinflamatuvar semptomlar tarif edilmiştir. *Kitamura ve ark.* soğuk bağlı ürtiker, nispeten yumuşak bir fenotipe sahip bir aile tarif. (162) IL-1 inhibisyonuna ve periferik IL-18'e yanıt değerlendirilmedi. Daha sonra *Volker-Touw ve ark.* yanlış bir NLRC4 mutasyonu ile ayrılmış ürtikeryal ve nodüler

döküntüler, konjunktivit, artrit, IBD ve sensörinöral işitme kaybı (*CAPS'nin ayırt edici* bir semptomu) dahil olmak üzere otoinflamatuvar fenotiplerin bir spektrumuna sahip başka bir geniş aile tanımladı (161). IL-1 inhibisyonuna yanıt bu türden oldukça değişkendi ve nodüler döküntü biyopsisi, diğer inflammasomopati döküntülerinin nötrofilik infiltrasyonunun aksine lenfositik infiltrasyon gösterdi. Serum IL-18, bu türden etkilenen üyelerde derinden yükseldi. Son olarak, *Kawasaki ve ark.* Hastalığı IL-1 blokajına tamamen yanıt veren ve sonunda yüksek frekanslı somatik *NLRC4* mutasyonu taşıdığı bulunan ciddi CAPS klinik semptomları olan bir hastayı tanımladı. (163) Bu nedenle, *NLRC4* inflammasomopatili tüm hastalarda MAS veya enterokolit gelişmez, ancak bu diğer sunumlar yine de diğer birçok otoinflamatuvar hastalıkta gözlenenlerle tutarlıdır. Eikosanoid üretimi için murin *NLRC4* aktivasyonunun spesifik eğilimi, bu hastalarda, özellikle IL-1 β ve/veya IL-18 blokajına eksik yanıtları olanlarda değerlendirilmemiştir, ancak COX inhibisyonu, en hafif etkilenenler dışında hastaların hepsinde yetersiz tedavi olmuştur. (164)



Şekil 15: *NLRC4* proteini farklı domainlerindeki mutasyonların neden olduğu hastalıkların şematik yapısı. (165) 1-) Yeni doğanda kolit (AIFEC), 2-) Makrofaj Aktive Sendromu (*NLRC4*-MAS), 3-) Familial Cold Induced Autoinflamator Sendrom (FCAS) (4 klinik tipinden 3.'südür).

Herhangi bir monojenik hastalıkta fenotipik heterojenliğin kaynaklarını tespit etmek zordur, ancak burada yine *NLRC4* bazı ilginç ipuçları sunmaktadır. Şimdiye

kadar tarif edilen az sayıda hasta olmasına rağmen, NLRC4 mutasyonunun amino asit pozisyonu ile tarif edilen fenotipler arasında bir genotip / fenotip korelasyonu olabilir. MAS ile ilişkili mutasyonlar, Helical Domain (HD) -1 içinde 337 ila 341 amino asit pozisyonları etrafında yoğunlaştırılmıştır. Daha klasik inflammasomopati semptomları ile ilişkili mutasyonlar, Winged Helix Domain (WHD) içerisinde 443 ve 445 pozisyonlarında tanımlanmıştır. Özellikle, H443P mutasyonu, benzersiz SUG1 artmıştır etkileşimleri ile ilişkilendirilen ve ubiquitine proteinleri ve sonuçta, bir insan akciğer epitelyal hücre hattı bir CASP8 bağımlı apoptosisi sürdürülmüştür. (164) Bu artan aktivite, diğer *NLRC4* işlev kazanımı mutasyonları (yayınlanmamış gözlemler) ile *in vitro* çalışma ile tutarlı olarak S533 fosforilasyonundan bağımsızdı. Bu hücre hattında NLRC4 inflamazomunun rakip bir efektörü olarak CASP1 seviyeleri değerlendirilmedi. Somatik mutasyonlar, sunumlarında değişken olsalar da, Nükleotid Bağlama Alanı (NBD) içindeki 171 (utero MAS, plasental tromboz) ve 177 (şiddetli CAPS) pozisyonlarında meydana geldi. Bugüne kadar yayınlanan tüm mutasyonlar, varsayılan ADP / ATP bağlanma sitesi (113) yakın çevresinde meydana geldi. (Şekil 15)

Akkaya (166), Projesinden elde ettiği bulgulara dayanarak, NLRC4'ün alerjik reaksiyonlarla daha yakından ilişkili olduğu ve TLR sinyal yolağının ise daha genel ve geniş bir bağışıklık yanıtı yelpazesine yol açtığı ileri sürülebileceğini bildirmiştir. Araştırma ve klinik gözlemler biriktikçe, NLRC4 hiperaktivitesi, otoenflamasyon, IL-18, infantil enterokolit ve MAS arasındaki bağlantıları anlamamızı geliştireceğiz. Aynı zamanda, bu bulguların, NLRC4 veya ilişkili sinyal yollarının sJIA ve AOSD gibi daha yaygın hastalıklarda ve potansiyel olarak konak savunmasında ve ötesinde önemli olduğu durumları aydınlatacağını umuyoruz.

2.10. Tükürük

Tükürük bezleri sürekli fonksiyon gösteren organlardır ve salgılarına “tükürük” denmektedir. Erişkin bireylerde günde ortalama 1000-1500 ml. arası salgılanmaktadır. Uyarılmamış durumda çoğunlukla % 65 submandibuler bez, % 20 parotis, % 7-8 sublingual bezler ve %10'dan azını da küçük salgı bezleri salgılamaktadır. Uyarılmış parotis bezi tüm salgının 2/3'ünü sağlarken minör bezler uyarandan bağımsız olarak toplam salgının % 7-8'ini salgılamaktadır. Parotis salgısı serözdür ve viskozitesi salgılananlardan azdır. Submandibuler bezin seromüköz salgısı

% 2-6 katı maddeler içermektedir. Uyarılmamış bezlerdeki salgı 0,1 ml/dk, uyarılmış haldeki en az 0.2ml/dk olmalıdır. Hipofonksiyon, uyarılmamış bezlerdeki 0.1ml/dk'nın altındaki salgıdır durumudur (167-169)

Asit atağını takiben minede oluşan demineralizasyonun derecesi ile ilerleyişini ya da remineralizasyon aşamasını, tükürük pH'ı, akış hızı ve tamponlama kapasitesi etkilemektedir (170). Plak ile mine arasındaki sıvı yüzeye flor iyonlarını tükürük iletir (171).

Tükürük İçeriği

Büyük tükürük bezleri (parotis, submandibular, sublingual) ve ağzın değişik bölgelerine yerleşmiş olan küçük bezlerce salgılanan tükürük (167,172) su ve makromoleküller olmak üzere iki ana maddeden oluşmaktadır. İçeriğinde, su % 99, inorganik iyonlar % 1, salgısal glikoproteinler, serum elemanları ve enzimler bulunmaktadır. Tükürük şeffaf, az akışkan, renksiz ve tatsız yapıdadır. (173)

Yapısındaki pityalin (amilaz), karbonhidratların sindirilmesinde büyük bir görev alır. İnsanda bulunan tükürüğün amilolitik aktivitesi α -amilaza bağlıdır. Amilolitik aktivite karbonhidrattan zengin yapılan diyetle ciddi düzeyde artış gösterir. Dilin arka bölümündeki vonEbner bezlerinden salgılanmakta olan lipaz trigliseritin parçalara ayrılmasında görevlidir. Çok miktarda alınan yağlı diyet sonrası, pankreatik lipazla beraber salgıda artış gözlenir. (168,172,174-176)

Tükürük yoğunluğu 1003–1009 g/ml aralığında değişir. Tükürük hipotonik yapıdadır ve viskozitesi 19-35 mPa.s arasındadır. Tükürüğün organik maddelerini rodanürler, pityalin, musin, maltaz, glikoproteinler ve mukopolisakkaritler oluştururlar. Tükürükte adenosin trifosfataz, amilaz, laktoferrin, muramidaz (lizozim), alkalin, maltaz ve asit fosfataz, laktoperoksidaz, peroksidaz, laktik dehidrogenaz, kalikrein vb. enzimler bulunmaktadır. (167,173)

Tükürüğün Görevleri:

Tükürüğün insan vücudunda çok önemli görevi vardır. Sindirim, ağızda başlamaktadır. Temel görevi, yiyeceklerin sindirilmesine yardımcı olmak ve sindirim kanalının giriş bölgesini korumaktır. Tükürük salgısı hem yenilenlerin eritilmesinde hem de bunların tat cisimciklerine taşınmasında görevlidir. Bunların yanı sıra, tat cisimcikleri tükürükle temizlenerek yeni uyarılara hazır hale getirilmektedir. (168,172,174,175) Gıdaların çiğnenmesi esnasında, bunların mekanik ve kimyasal

parçalanması ile lokmanın özofagusa iletilmesine yardımcı olur. Ağız içerisinde çiğnenip küçük parçalara ayrılmış yiyecekler tükürükteki musin yardımıyla daha yumuşak kıvama sahip bir şekle dönüşürler. Besinler daha sıvık ve kaygan forma dönüştüklerinden dolayı yutma daha kolay hale gelmiş bulunur. Tükürüğün içeriğindeki musin, ufalanan parçacıkları birbirlerine yapıştırmak suretiyle yutulması kolay şekle dönüştürür. Ağız kuruluğuna sahip bireylerde yutma durumunun zorlaştığı bilinmektedir. (168,172,175,177)

Flor iyonları, mineyle plak arasında bulunan sıvı yüzeye tükürük yoluyla iletilmektedir. Asit atağı başladığında remineralizasyonun kolaylaşması için tükürüğün içinde belirli düzeyde florun sürekli bulunması önerilmiştir. (178,179)

Bireyin çürük geçmişi ve son bir yılda meydana gelen yeni çürük lezyonları, tükürüğün akış hızı, florun alım miktarı, beslenme tarzı, oral kavitedeki streptokokus mutans ve laktobasillerin miktarı ve plak indeks değerlerinin gözden geçirilmesi, çürük riski taşıyan kişilerin belirlenmesinde önemlidir (180).

Tükürüğün yapısında mukozayı enfeksiyonlara karşı koruyan ve mikroorganizmaların sayısının artmasını engelleyen oldukça fazla madde yer almaktadır. Ağız hastalıklarının çeşidine bağlı olarak enzim aktivitesi farklılık gösterebilir. Bunun haricinde savunma elemanlarından biri de tükürük immunglobulinleridir. IgA'nın görevi mukozanın dış yüzeylerini çeşitli mikroorganizmalara karşı korumaktır. Tükürüğün içeriğinde IgA haricinde IgG ve IgM de görülmektedir. Laktoferrin demire bağlı bir proteindir ve antibakteriyel özelliğe sahiptir. Antibakteriyel özelliğinin yanı sıra tükürüğün non-karyojenik mikrofloraya ait bazı bakterilerin çoğalmasına olan katkısı üzerinde de durulmuştur. (168,172,175,181,182)

Oral kavitenin optimum düzeyde tükürük salgısı içermesinin diş sağlığı ve ağız temizliğinde önemi büyüktür. Tükürüğün salgılanma hızının diş yüzeylerinin mekanik temizliğine olan katkısı çoktur. (168,172-174,183)

Diagnostik Tükürüğün Önemi

Tükürük ucuz ve kolay elde edilebilmesi, eldesi sırasında minimum enfeksiyon riskine sahip olması, sağlık çalışanına ihtiyaç olmadan kişi tarafından kolayca elde edilebilmesi sonucu hastalıkların tanı ve tedavisinin değerlendirilmesinde

kullanılabilir. Kan serumuna kıyasla lokal faktörleri de içeriyor olması avantajlarından biridir. (205)

Tükürükle yapılacak olan teşhis yöntemleri üzerine çalışmalar günümüzde popülerliğini koruyarak sürmektedir. Kullanıma girmiş çeşitli testler vardır. (172,184,185)



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi (İKÇÜ) Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'nda MBT tekniği (American Orthodontics materyalleri) ile sabit ortodontik tedavi görmekte olan ve yaşları 12 ile 17 arasında değişen herhangi bir sendrom bulgusu bulunmayan 42'i kız ve 37'i erkekten oluşan toplam 79 birey dahil edilmiştir (Tablo 2). NLRC4 ve ACTB (Beta Actinin: House Keeping Gen) ölçümleri için 1. ölçümlerde 79 birey bulunurken, 2. ve 3. ölçümlerde "COVID-19 Küresel Salgın" nedeni ile bazı bireylere ulaşılamamış ve bunun sonucunda 43 kayıp veri oluşmuştur. Bu nedenle 2. ve 3. ölçümlerde 36 birey bulunmaktadır. Bu hastalardan 0. gün, 30. gün ve 180. günlerde genetik materyal örnekleri, 5 ml tükürük alınmıştır. Her örnekten hem genomik DNA hem de mRNA izolasyonu yapılmıştır. DNA örneklerinden NLRC4 gen mutasyon analizi, mRNA örneklerinden NLRC4 inflamazom yolağı gen ekspresyon düzeyleri çalışılmıştır.

Tablo 2. Araştırmaya katılan birey sayıları ve ortalama yaş değerleri

	Kız	Erkek	Toplam	Ortalama yaş
Çalışma grubu	42	37	79	14,69 ± 1,53

Araştırmanın kontrol grubu yoktur; öncesi ve sonrası verileri arasındaki ilişki ve farklar prospektif olarak incelenecektir.

Bu çalışma için etik uygunluk belgesi (2020-987) "İKÇÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu"ndan alınmıştır. Araştırmamız, İKÇÜ BAP (Bilimsel Araştırma Projesi) koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (proje no: 2020-TDR-SABE-0009).

Çalışmada bulunan bireyler, çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgilendirilmiştir. Araştırmaya katılmaya istekli bireylerin kendileri ve ebeveynlerinden aydınlatılmış onamları / rızaları yazılı olarak alınmıştır. Ayrıca çalışmaya dahil edilen hastaların ortodontik tedavilerine de başlamak için İKÇÜ Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulu'nun onaylamış olduğu, "Hasta aydınlatılmış onam formu" hastaların tamamının 18 yaş altı olmaları nedeni ile velilerine imzalatılmıştır.

Çalışmaya dahil edilecek bireyler gönüllüler arasından seçilmiş ve aile özgeçmişleri alınmıştır.

Çalışmaya dahil edilen bireyler, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı ve Moleküler Tıp ve Genetik Tanı Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı öğretim üyesi, Genetik uzmanı Prof. Dr. Afig Berdeli tarafından değerlendirilmiştir.

3.1. Hasta Seçimi

Araştırmada yer alacak bireyler, aşağıdaki kriterlere göre seçilmiştir.

Dahil edilme kriterleri:

- 12 yaşında veya 12 yaşından büyük olmak
- 17 yaşında veya 17 yaşından küçük olmak
- Ortodontik tedavi görmek amacıyla kliniğe başvurmuş olan bireyler çalışmaya dahil edilmiştir.

Dahil edilmeme kriterleri:

- Sendromu olan,
- Sistemik hastalığı olan,
- Çene yüz cerrahi geçmişi olan bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir.

3.2. Tükürük Örneği Alınması

Hastalardan uyarılmamış tükürük örneği alınmıştır. Tükürük örneği alımında hastalardan varsa toka gibi başlarını konumlandırmayı engelleyici malzemelerin çıkarılması istendi. Dik bir şekilde oturan hastanın başı öne eğilerek ağızda tükürüğü biriktirildi. Biriken tükürük, steril bir plastik kaba tükürtüldü (Şekil 16).



Şekil 16: Hastanın tükürük örneği vermesi.

3.3. Tükürükten RNA İzolasyonu

1.RNA İzolasyon

Hastalardan alınan tükürükten RNA elde edildi. Bu yöntem için Trizol-Kloroform muamelesi sonrası Ambion Purelink RNA Mini Kit kullanıldı.

Trizol-Kloroform muamelesi ve Ambion Purelink RNA izolasyon mini Kit prosedürü:

Hazırlama (186)

- Her hasta için 1,5 ml'lik ependorf, spin ve kolon tüpler hazırlanır.
- Etil alkol saf olması için yeni olarak hazırlanır. (%70)

Prosedür

- 500µl tükürük, Steril bir ependorf tüpüne konur.
- Üzerine 1000 µl Trizol konulur ve vortekslenir. RT da inkübe edilir.
- Üzerine 200 µl Kloroform(-20) konulur ve vortekslenir. RT da inkübe edilir.
- 12.000g' de 15 dakika +4° C de santrifüj edilir.
- Örnekler santrifüjden alınarak tüpün üst kısmındaki RNA içeren renksiz kısmı alınır, yeni tüpe aktarılır, üzerine aynı oranda %70 Etanol (-20) eklenir.
- Toplam ürün miktarı filtreli kolon tüplerine aktarılır ve 12.000g' de 45 saniye

santrifüj edilir.

- Kolonları atılır ve filtreler temiz tüpe yerleştirilir.
- 700 µl Wash Buffer 1 ilave edilir.
- 12.000 g'de 45 saniye santrifüj edilir. Kolonları atılır ve temiz tüpe yerleştirilir.
- 500 µl Wash Buffer 2 ilave edilir.
- 12.000 g'de 45 saniye santrifüj edilir. Kolonları atılır ve temiz tüpe yerleştirilir.
- Tekrar 500 µl Wash Buffer 2 ilave edilir.
- 3 dakika maksimum hızda santrifüj edilir. Kolonları atılır ve filtre temiz ependorf tüpe yerleştirilir.
- 25-100 µl (ort. 50 µl) RNase Free Water eklenerek, 1-2 dakika oda ısısında bekletilir.
- Maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilir.
- Elde edilen RNA toplama tüpünde birikmiştir. +4°C'de ya da -20°C'de saklanılarak, gerekirse dilüe edilerek kullanılır.

2. RNA'nın kontrolü

RNA saflığının ölçülmesi için Qubit2.0 flurometer kullanıldı. İzolasyon ve kantite edilen RNA'dan hemen cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Uzun dönemli saklama -80 °C ve daha kısa dönem saklama -20 °C'de gerçekleştirilmiştir.

3. Revers Transkripsiyon PCR İle RNA'dan cDNA Sentezi

High Capacity cDNA reverse transcription Kit, izole edilen RNA'dan cDNA sentezinde kullanılmıştır. Thermal Cycler 37° C'de 120 dk, 25° C'de 10 dk, 85° C'de 5dk ve 4° C'de ∞, 1 siklus cDNA reaksiyonunun sıcaklık döngüsü programını oluşturmuştur. cDNA konsantrasyonu NanoDrop Spektrofotometre cihazı ile ölçülmüştür.

4. NLRC4 Geni mRNA Ekspresyonu ve Kantitasyonu; Real-Time PCR Metodu

Real-Time PCR, sonraki 30. ve 180. gün çalışmasına katılan toplam 36 hasta ve sağlıklı kontrol olarak ifade edilen gruplar arasındaki hedef genin (NLRC4) mRNA miktarındaki değişimi gözlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Real-Time PCR reaksiyonu ABI PRISM 7700 cihazında gerçekleştirilmiştir. Kontrol gen olarak ACTB

(Beta Actinin: house keeping gen) kullanılmıştır. Karışım; 12,5µl Taqman 2X PCR Master Mix, iki ayrı gene spesifik 2µl forward, 2µl revers primerler ve 0,5µl prob setleri, 1-3 uL RNAaz-DNAaz free su ve 5-7µl (ort.4ng/µl) cDNA olmak üzere total volüm 25 µl'ye tamamlanmıştır. Standart real time PCR programı uygulanmıştır.

3.4. Değerlendirme

Sonuçlar Comparative Ct yöntemi ile hesaplanmıştır.

1. Tükürükten Genomik DNA Ekstraksiyonu

1 ml PBS de çözünmüş tükürükten total genomik DNA ekstraksiyonu Iprep Purelink gDNA kit kullanılarak otomatik sistemden elde edilmiştir.

2. DNA Miktarının Saptanması

DNA saflığının ölçülmesi için, NanoDrop Spektrofotometre cihazında 260/280 nm dalga boyunda DNA solüsyonunun absorbans intensitesi ölçülmüştür. Tükürükten elde edilen DNA 10ng/1 mkl olarak dilüe edilerek buzdolabında +4°C de PCR yapılıncaya kadar tutulur.

3. DNA Kalitesi

2 µL DNA çözeltisi %1'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu. Elektroforez işlemi için agarozdan 2 gr tartılarak 100 uL 1XTBE tapon çözeltisinden manyetik boncuk ile karıştırılıp mikrodalga fırında eritilmesinin ardından homojen görünüme ulaşılmış ve 60 C'ye soğutulmuştur. Üzerine 10 ug/mL konsantrasyonunda etidyum bromide (Sigma Co., S. Louis, MA, USA) solüsyonundan 10 uL ilave edilmiştir. Bu solüsyon DNA interkalasyonu yapmakta ve DNA'yı UV ışık altında görünür kılmaktadır. Kontrolü tamamlanan DNA molekülleri, DNA sekans analizine başlamak üzere +4 C'de saklanmıştır. (207)

4. NLRC4 Gen Mutasyon Analizi

4.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

NLRC4 geni için spesifik oligonükleotid primerler ile ayrı ayrı PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. NLRC4 geninin (NM_001302504.1) tümü ve intron-ekzon bağlanma bölgelerinden her bir ekzona spesifik oligonükleotid primerleri ile Invitrogen PCR Kiti kullanarak PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

4.2 PCR Koşulları

10 ng tükürükten elde edilen genomik DNA, Enhancer Buffer (20 mM Tris (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂) 2,5 µl, d NTP mix karışımı 0,5 µl (0,2 mM), forward primer 1 µl (10 pmol/ul), reverse primer 1 µl (10 pmol/ul) (Invitrogen), 1,0 U PlatinumTaq DNA Polymerase (Invitrogen, Carlsbad, CA), deionize su ile 25 uL total volume tamamlanmıştır. VERITI Gradient Thermal Cycler cihazında gradient programında amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

4.3 PCR Ürünlerinin Purifikasyonu

Elde edilen PCR ürünleri, agaroz jel elektroforezinde kontrol edilerek pozitif PCR fragmanları Exo-SAP enzim karışımı kullanarak purifiye edilmiştir (5:1 oranında). Saflaştırılmış PCR ürünleri yeniden agaroz jel elektroforezine tabi tutularak jelde görüntülenmiştir.

4.4 DNA Dizi Analizi(201B89)

Purifikasyonu tamamlanmış olan ürünlerin BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit ve *NLRC4* geni özgül primerler kullanılarak BigDye işlemi yapıldı. BigDye aşaması *Veriti Thermal Cycler* cihazında gerçekleştirildi. Üreticinin tavsiye ettiği protokole bağlı kalınarak uygulama yapıldı. BigDye aşamasından sonra BigDyeX Terminator kiti kullanılarak BigDye purifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 3: Reaksiyon ürünlerinin sekanslama protokol içeriği. (186)

Protokol içeriği	Reaksiyon başına miktar (µl)
Purifikasyonu tamamlanmış ürün	1
Tepkime Tamponu	2,5
BigDye 3,1 Reaksiyon Karışımı	2
Primer (İleri veya Geri) (10 µM)	2
Deiyonize su (dH ₂ O)	12,5
Toplam	20

Purifikasyonu tamamlanmış olan ürünler *ABI 3130XL Genetic Analyser Otomatik DNA Dizileme* cihazına konulmuştur ve piklere göre nükleotid dizileri okunmuştur. Otomatik DNA dizi analiz cihazları basit olarak, sabit bilgisayarda yüklü programlar ile bu programların yönettiği elektroforez sistemini içerir. Elektroforetik ünitelerde bulunan lazer ışık kaynağı ile monokromatik bir ışık oluşturulur. Söz

konusu DNA' nın bulunduğu jelmatriks bu monokromatik ışık ile taranır. Elektroforez süresince DNA' ya bağlanan floresan boya ışık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtır. Yansıyan bu ışık demeti bir dedektör tarafından kaydedilir. Kaydedilen veriler bilgisayar programları ile değerlendirilir ve sonuçlar grafiksel olarak bilgisayar ekranına aktararak değerlendirilir. (187)

DNA dizileme sonucunda nükleotid değişimleri, National Institute of Health'in web sayfasındaki (www.ncbi.nih.gov) genbank NM_001199138.2 ve protein database referans dizileri NP_001186067.1 ile karşılaştırılmıştır (188).

3.5. İstatistik Değerlendirmesi

SPSS 25 istatistik paket programı (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25,0. Armonk, NY: IBM Corp.) verilerin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma ve Medyan (Maksimum-Minimum) yüzde ve frekans değerleri kullanılmıştır. Ayrıca varyasyonları görebilmek için Violin ve Diamond grafikleri ile değerlendirilmiştir. Mauchy's Küresellik Testi ve Box-M Varyansların Homojenliği Testi ile verilerin tekrarlanan ölçümler varyans analizine uygunluğu değerlendirilmiştir. Tekrarlanan ölçümler varyans analizi ortalamaların karşılaştırılması için kullanılmıştır. NLRC4 değişkeni görülen hastalarda, DNA zincirindeki varyantların deformasyon alanına göre zaman bakımından değişimleri değerlendirilmiştir. Eğer parametrik testlerin (faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümler varyans analizi) önşartlarını sağlamıyorsa serbestlik derecesi düzeltmeli Greenhouse-Geisser (1959), ya da Huynh-Feldt (1976) testlerinden biri kullanılmıştır. Düzeltilmiş Bonferroni Testi ile çoklu karşılaştırmalar gerçekleştirilmiştir. Değişkenler normallik, varyansların homojenliği ön şartlarının kontrolü yapıldıktan sonra (Shapiro Wilk ve Levene Testi) değerlendirilmiştir. Veri analizi yapılırken, iki grup karşılaştırması için Bağımsız 2 grup t testi (Student's t test), önşartlar sağlamadığında ise Mann Whitney-U testi, üç ve daha fazla grup karşılaştırması için Tek Yönlü Varyans Analizi ve çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD testi ile sağlanmadığında ise Kruskal Wallis ve çoklu karşılaştırma testlerinden Bonferroni-Dunn testi kullanılmıştır. Sürekli iki değişken arasındaki ilişki Pearson Korelasyon Katsayısı ile parametrik test ön şartlarını sağlamadığı durumda

ise Spearman Korelasyon Katsayısı ile değerlendirilmiştir. Kategorik veriler Fisher's Exact Test ve Ki Kare testi ile analiz edilmiştir. Beklenen frekansların % 20'den küçük olduğu durumlarda bu frekansların analize dahil edilmesi için "Monte Carlo Simulasyon Yöntemi" ile değerlendirme yapılmıştır. Testlerin anlamlılık düzeyi için $p < 0,05$ ve $p < 0,01$ değeri kabul edilmiştir.

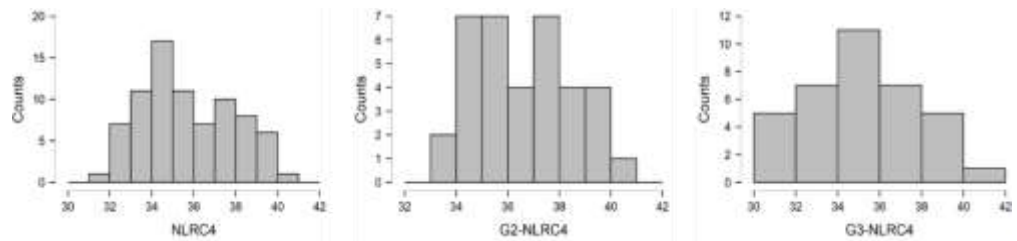
Örneklem sayısının belirlenmesinde G*Power 3.1.3 (Franz Faul, Universität Kiel, Germany) yazılım programı kullanılmıştır. Yapılan Power analizi sonucunda, 0,1992 etki genişliğinde ve $\alpha = 0,05$ anlamlılık seviyesinde 79 hastadan oluşan örneklem sayısının testin gücünün %99 olduğu belirtilmiştir. Ayrıca 0,1941 etki genişliğinde ve $\alpha = 0,05$ anlamlılık seviyesinde 35 hasta ile testin gücü %95 olarak belirlenmiştir. Çalışmada, 1. ölçümlerde 79 birey bulunurken 2. ve 3. ölçümlerde pandemi dolayısı ile bazı bireylere ulaşılamaması nedeniyle 43 kayıp veri bulunmaktadır, bu nedenle 2. ve 3. ölçümlerde 36 birey bulunmaktadır. Toplam 36 hastanın çalışma kapsamına dahil edilmesi güç analizi bakımından yeterli olduğu belirlenmiştir.

4. BULGULAR

Tablo 4: Prospektif olarak yapılan mRNA ortalama değerleri.

Ölçümler	n	n (kaybedilen)	Ort±SS [Medyan (Min.-Maks.)]
NLRC4	79	0	35,74±2,22 [35,38 (31,53-40,30)]
ACTB	79	0	26,99±2,08 [26,84 (22,45-31,86)]
G2-NLRC4	36	43	36,66±1,96 [36,68 (33,32-40,62)]
G2-ACTB	36	43	27,90±1,60 [28,12 (24,55-30,98)]
G3-NLRC4	36	43	34,89±2,68 [34,60 (30,22-40,47)]
G3-ACTB	36	43	28,13±1,00 [28,15 (26,05-29,61)]

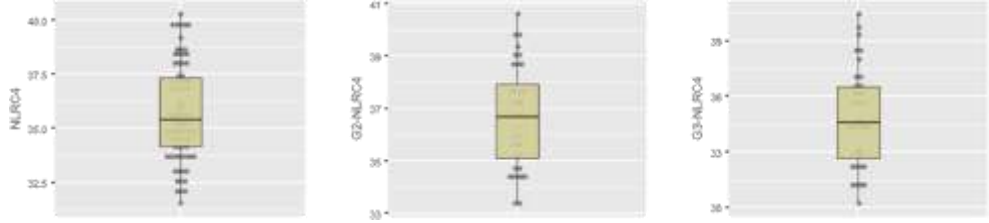
Tablo 4 incelendiğinde NLRC4 ve ACTB ölçümleri için 1. Ölçümlerde 79 birey bulunurken 2. ve 3. ölçümlerde pandemi dolayısı ile bazı bireylere ulaşılamamış 43 kayıp veri bulunmaktadır. 2. ve 3. ölçümlerde 36 birey bulunmaktadır. NLRC4 ölçümleri için elde edilen değerler 35,74±2,22; G2-NLRC4 ölçümü için 36,66±1,96; G3- NLRC4 ölçümü için 34,89±2,68 olarak elde edilmiştir. ACTB ölçümleri için 1. ölçümde 26,99±2,08; 2. ölçümde 27,90±1,60 ve 3. ölçümde 28,13±1,00 olarak elde edilmiştir.



Şekil 17: NLRC4 Ölçümlerinin Histogram Grafikleri.

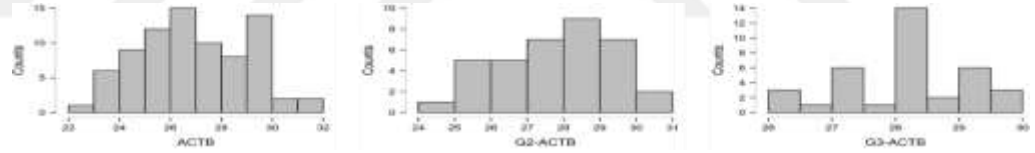
NLRC4 değişkeni için farklı zamanlardaki ölçüm sonuçlarının dağılımın şekli çan eğrisi şeklindedir, çarpıklık ve basıklık bulunmamaktadır ayrıca simetrik bir

dağılıma sahiptir. Bu durum NLRC4 ölçümlerin normal dağılıma uygun olduğu anlamına gelmektedir. (Şekil 17)



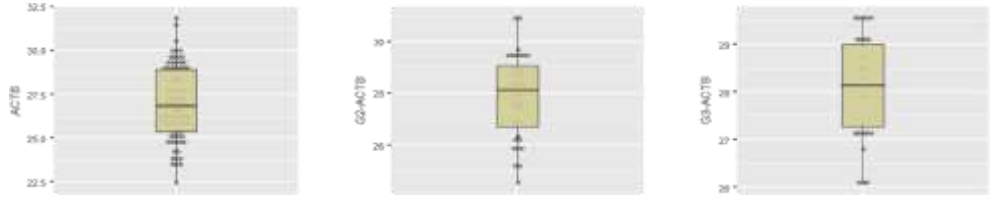
Şekil 18: NLRC4 Ölçümlerinin Box-Plot Grafikleri.

Şekil 18 incelendiğinde NLRC4 ölçümlerinin ölçüm zamanlarına göre değerlerinin Box-Plot grafiklerine bakıldığında veri setinde uç değerlerin bulunmadığı ve bu ölçümlerin yoğunluklarının homojen dağıldığı söylenilebilir. Şekil 17 ve 18, sonucunda verilerin normal dağılıma uygun olduğu ve homojen dağıldığı anlamına gelmektedir.



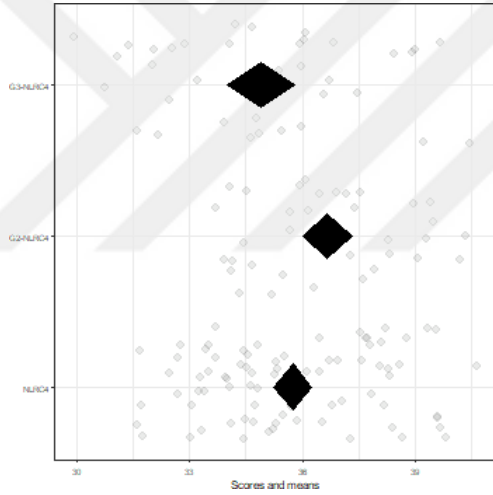
Şekil 19: ACTB Ölçümlerinin Histogram Grafikleri.

ACTB değişkeni için farklı zamanlardaki ölçüm sonuçlarının dağılımın şekli çan eğrisi şeklindedir, çarpıklık ve basıklık bulunmamaktadır ayrıca simetrik bir dağılıma sahiptir. Bu durum ACTB ölçümlerinin de normal dağılıma uygun olduğu anlamına gelmektedir. (Şekil 19)



Şekil 20: ACTB Ölçümlerinin Box-Plot Grafikleri.

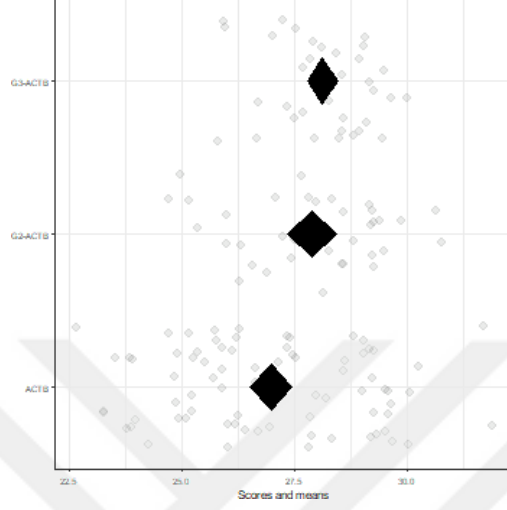
Şekil 20 incelendiğinde ACTB ölçümlerinin ölçüm zamanlarına göre değerlerinin Box-Plot grafiklerine bakıldığında veri setinde uç değerlerin bulunmadığı ve bu ölçümlerin yoğunluklarının homojen dağıldığı söylenilebilir. Şekil 19 ve 20, sonucunda verilerin normal dağılıma uygun olduğu ve homojen dağıldığı anlamına gelmektedir.



Şekil 21: NLRC4 Ölçümlerinin Diamond-Plot Grafikleri.

Elmas grafik, verilerin yoğunluğu ve ortalamaları hakkında bilgi veren bir grafikdir. Bu grafikte (Şekil 21) 3 ölçüm içinde elmaslar grafiğin birbirine yakın bölümlerinde bulunduğu için ortalamaların birbirine yakın olduklarını gösterir. Elmasların boyutu ise verilerin validasyon (yoğunluk) hakkında bilgi vermektedir. Elmasın büyük olması verilerin validasyonunun (yoğunluğunun) fazla olduğu küçük olması ise az olması anlamına gelmektedir. Bunun sonucunda 3 ölçümde validasyon fazla iken 1 ölçümde validasyon az olduğu Şekil 21’de görülmektedir. Kısacası en

düşük ölçüm güvenirliliği G3-NLRC4; orta düzeyde bir ölçüm güvenirliliği G2-NLRC4 ve en yüksek ölçüm güvenirliliği NLRC4 ölçümlerinde olduğu söylenilebilir.



Şekil 22: ACTB Ölçümlerinin Diamond-Plot Grafikleri

Şekil 21’de olduğu gibi Şekil 22’de de ACTB ölçümleri için elmas grafik verilmiştir. Elmas grafiğe göre, üçgenler aynı hizada olduğundan ve çok büyümediğinden dolayı veride validasyon olmadığını ifade etmektedir. ACTB değişkeni için 1.ölçümde orta düzeyde bir ölçüm güvenirliliği; G2- ACTB ölçümünde en düşük ölçüm güvenirliliği ve en yüksek ölçüm güvenirliliği G3-ACTB ölçümünde elde edilmiştir.

Tekrarlı ölçüm analizlerinden sonra ortalamalar arasındaki farklılıklar daha detaylı görülecektir.

Tablo 5: NLRC4 ve ACTB Ölçümlerinin Zamana göre Karşılaştırılması.

Ölçümler	Ort±SS [Medyan (Min.-Maks.)]	Kritik Değer	p value ¹
NLRC4	35,74±2,22 [35,38 (31,53-40,30)] ^b		
G2-NLRC4	36,66±1,96 [36,68 (33,32-40,62)] ^a	29,505	0,001**
G3-NLRC4	34,89±2,68 [34,60 (30,22-40,47)] ^c		
ACTB	26,99±2,08 [26,84 (22,45-31,86)]		
G2-ACTB	27,90±1,60 [28,12 (24,55-30,98)]	2,307	0,120
G3-ACTB	28,13±1,00 [28,15 (26,05-29,61)]		

*p<0,05

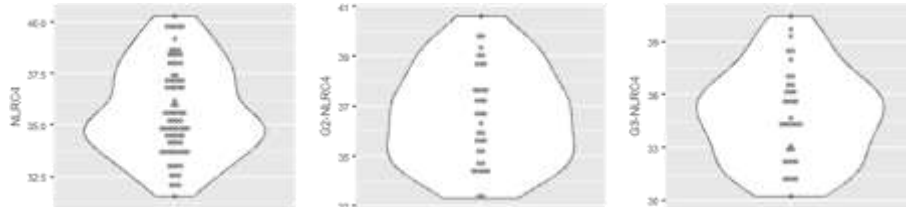
**p<0,01

¹ Repeated Measure ANOVA

a, b, c Ölçümler arasındaki farklılıkları gösterir.

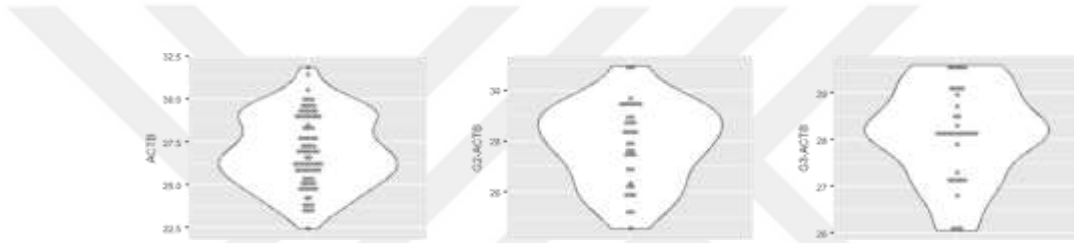
Tablo 5 incelendiğinde NLRC4 ölçümler zamana göre (prospektif izlemde) farklılık göstermektedir. İstatistiksel olarak bu fark anlamlıdır (F=29,505, p<0,05). Tüm ölçüm zamanları arasında anlamlı farklılıklar bulunmaktadır. NLRC4 için en yüksek ölçüm ortalaması 2. ölçümde, en düşük ölçüm ortalaması ise 3. ölçümde elde edilmiştir.

ACTB ölçümler zamana göre anlamlı bir farklılık istatistiksel olarak göstermemektedir (F=2,307, p>0,05). Yani ölçümler arasındaki farklılıklar bir anlam içermezken, rasgelelikten meydana gelmiştir. İç kontrol olarak kullanılan ACTB nin prospektif izlemde değişmemesi gözlenmektedir.



Şekil 23: NLRC4 Ölçümlerinin Violin-Plot Grafikleri.

Bir Violin (Keman) grafik, verilerin dağılımını ve olasılık yoğunluğunu görselleştirmek için kullanılır. Bu grafik, Kutu-Grafik ve Yoğunluk Grafiğinin, verilerin dağılım şeklini gösteren, bir kombinasyonudur. Belli bir değer üzerinde verilerin gruplanması keman grafikte şişmeye azalması ise daralmaya sebep olmaktadır. Bunun sonucunda NLRC4 ölçümlerinde 35,0 etrafında veriler geniştir ve 32,5 ile 40,0 etrafında veriler daha küçüktür. G2-NLRC4 ölçümlerinde veriler başta ve sonda küçüktür, diğer orta noktalarda daha geniştir. G3-NLRC4 ölçümlerinde veriler aşağı ve özellikle orta noktalarda daha geniş, üst noktalarda ise daha küçüktür. (Şekil 23)



Şekil 24: ACTB Ölçümlerinin Violin-Plot Grafikleri.

Şekil 23’de olduğu gibi Şekil 24’de de Violin (keman) grafik değerlendirilmiştir. ACTB ölçümlerinde veriler başta ve sonda küçüktür, 27,5 ile 30,0 noktaları arasında geniş, 25,0 ile 27,5 noktaları arasında çok daha geniştir. G2-ACTB ölçümlerinde veriler başta ve sonda küçüktür, 28 ve 30 noktalar arasında daha geniştir. ACTB ölçümlerinde veriler aşağı ve özellikle orta noktalarda daha geniş, üst noktalarda ise daha küçüktür.

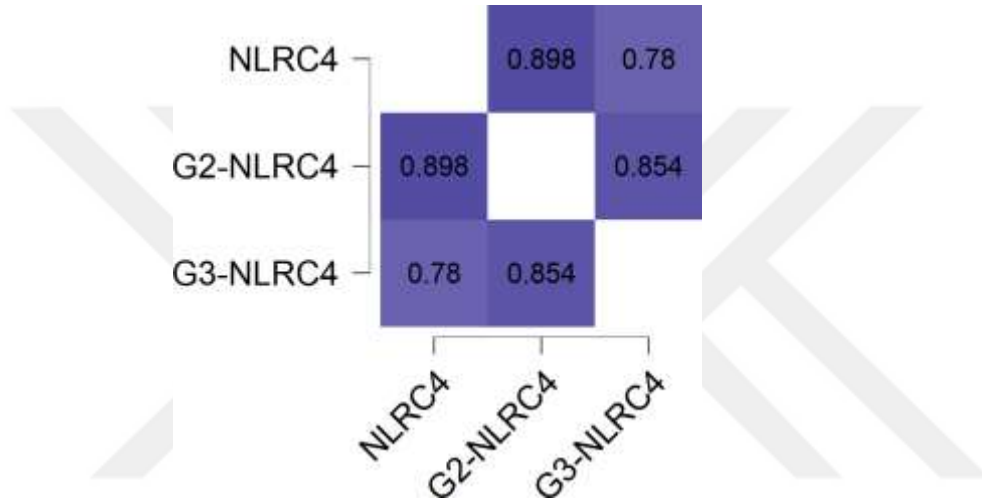
Tablo 6: NLRC4 Ölçümleri Arasındaki İlişkiler.

Ölçüm	NLRC4	G2-NLRC4
G2-NLRC4	0.898 ¹ **	
G3-NLRC4	0.780 ¹ **	0.854 ¹ **

*p<0,05 **p<0,01

¹ Pearson Korelasyon Katsayısı

Tablo 6’da NLRC4 ölçümleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Bunun sonucunda ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönlü güçlü ilişkiler bulunduğu görülmektedir. Bu ilişkiler NLRC4 ile G2-NLRC4 arasında pozitif yönlü %90’lık güçlü; NLRC4 ile G3-NLRC4 arasında pozitif yönlü %78’lik güçlü ve G2-NLRC4 ile G3-NLRC4 arasında pozitif yönlü %85’lik güçlü ilişkiler mevcuttur. Bu ilişkiler Şekil 25’te de verilmiştir.



Şekil 25: NLRC4 Ölçümleri Arasındaki İlişkiler.

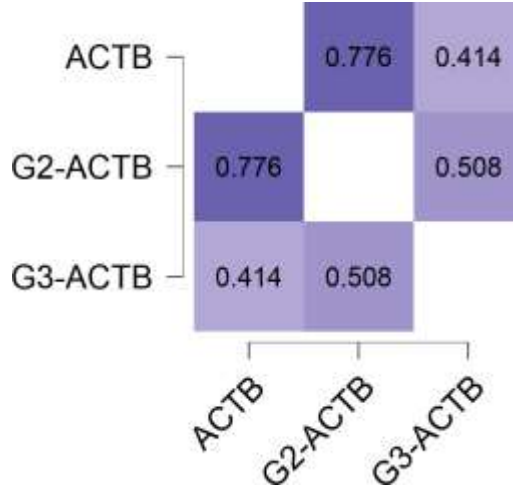
Tablo 7: ACTB Ölçümleri Arasındaki İlişkiler.

Ölçüm	ACTB	G2- ACTB
G2- ACTB	0.776 ¹ **	
G3- ACTB	0.414 ¹ *	0.508 ¹ **

*p<0,05 **p<0,01

¹ Pearson Korelasyon Katsayısı

Bunun sonucunda ölçümler arasında pozitif yönlü orta seviye, güçlü ve istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler bulunduğu görülmektedir (Tablo 7). Bu ilişkiler ACTB ile G2- ACTB arasında pozitif yönlü %78’lik güçlü; ACTB ile G3-ACTB arasında pozitif yönlü %41’lik orta seviye ve G2-ACTB ile G3-ACTB arasında pozitif yönlü %51’lik orta seviye ilişkiler mevcuttur. Bu ilişkiler Şekil 26’da da verilmiştir.



Şekil 26: ACTB Ölçümleri Arasındaki İlişkiler.

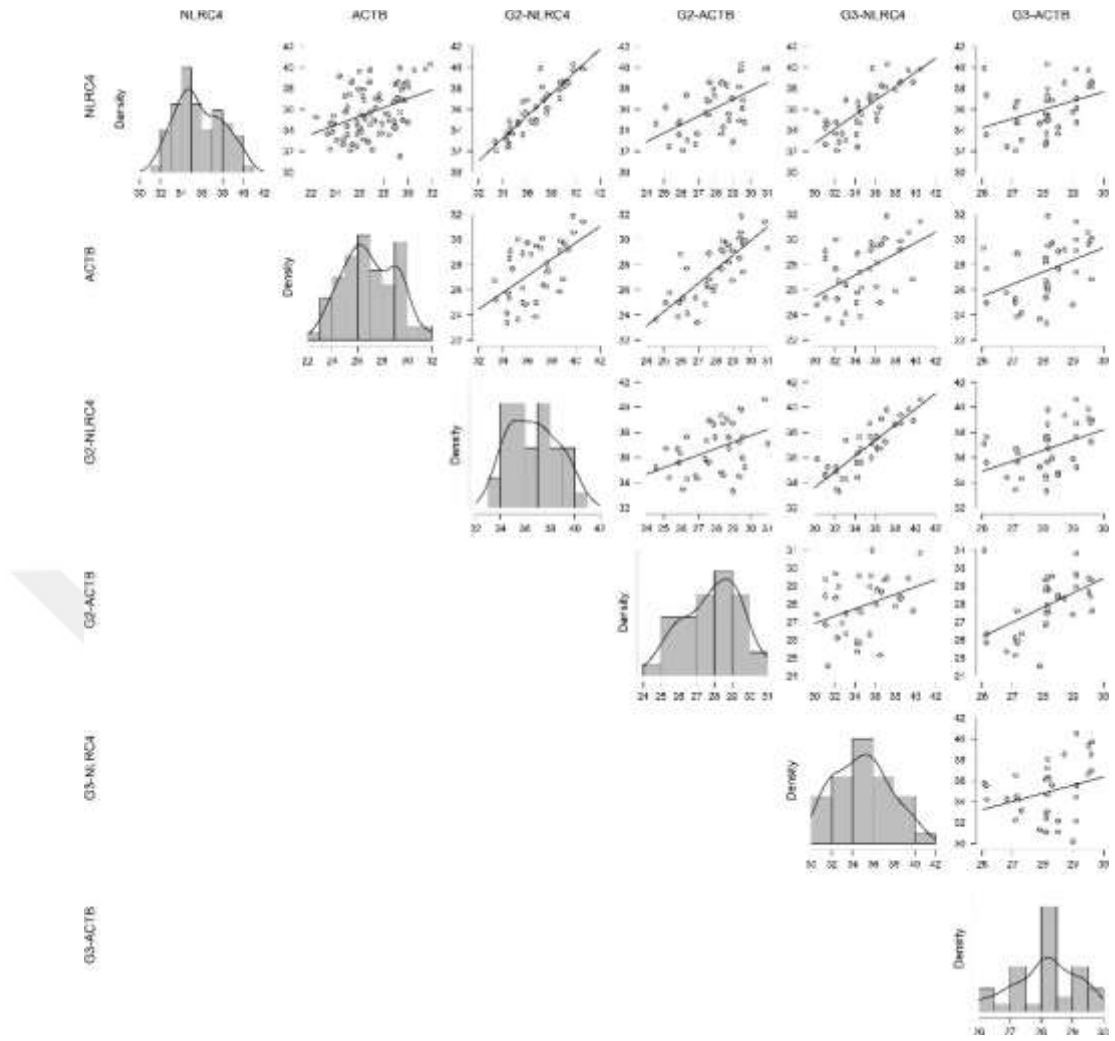
Tablo 8: Ölçümler Arasındaki Genel İlişkilerin İncelenmesi.

Ölçüm	NLRC4	ACTB	G2-NLRC4	G2-ACTB	G3-NLRC4
ACTB	0.40 ¹ **				
G2-NLRC4	0.90 ¹ **	0.55 ¹ **			
G2-ACTB	0.56 ¹ **	0.78 ¹ **	0.42 ¹ **		
G3-NLRC4	0.78 ¹ **	0.49 ¹ **	0.85 ¹ **	0.34 ¹ *	
G3-ACTB	0.37 ¹ **	0.41 ¹ **	0.42 ¹ **	0.51 ¹ **	0.29 ¹ *

*p<0,05

**p<0,01

¹ Pearson Korelasyon Katsayısı



Şekil 27: Ölçümler Arasındaki Genel İlişkilerin İncelenmesi.

Tablo 8’de ACTB ve NLRC4 ölçümleri arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir. ACTB ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında pozitif yönlü %40,0’lık; G2-NLRC4 ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında pozitif yönlü %90’lık; G2-ACTB ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında pozitif yönlü %56’lık; G3-NLRC4 ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında pozitif yönlü %78’lik; G3-ACTB ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında pozitif yönlü %37’lik; G2-NLRC4 ölçümü ile ACTB ölçümü arasında pozitif yönlü %55’lik; G2-ACTB ölçümü ile ACTB ölçümü arasında pozitif yönlü %78’lik; G3-NLRC4 ölçümü ile ACTB ölçümü arasında pozitif yönlü %49’luk G3-ACTB ölçümü ile ACTB ölçümü arasında pozitif yönlü %41’lik; G2-ACTB ölçümü ile G2-NLRC4 ölçümü arasında pozitif yönlü %42’lik; G3-NLRC4 ölçümü ile G2-NLRC4 ölçümü arasında pozitif yönlü %85,0’lik; G3-ACTB ölçümü ile G2-NLRC4 ölçümü

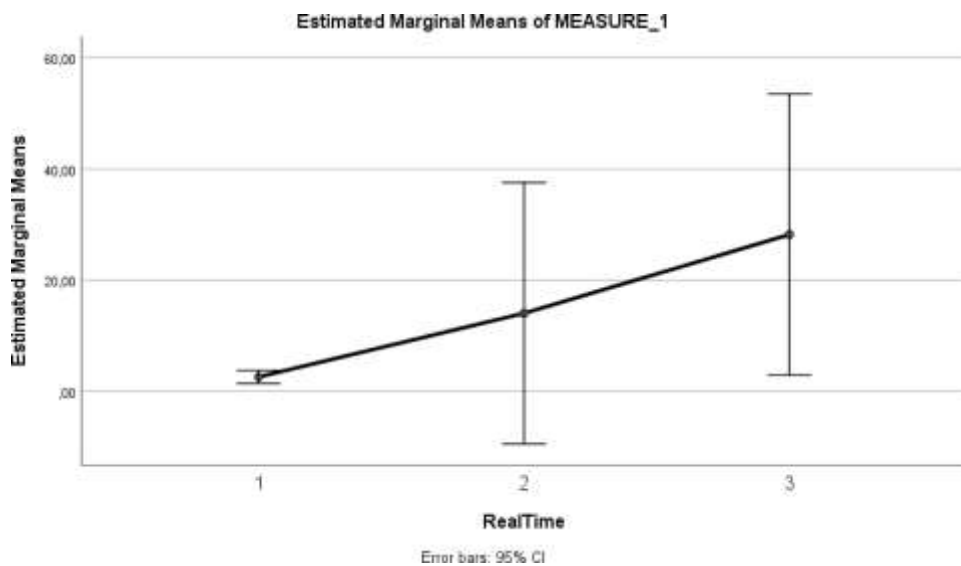
arasında pozitif yönlü 42'lik; G3-NLRC4 ölçümü ile G2-ACTB ölçümü arasında pozitif yönlü %34'lük; G3-ACTB ölçümü ile G2-ACTB ölçümü arasında pozitif yönlü %51'lik ve G3-NLRC4 ölçümü ile G3-ACTB ölçümü arasında pozitif yönlü %29,0'luk istatistik olarak anlamlı ilişki vardır ($p<0,05$). Bu ilişkiler Şekil 27'de görsel olarak sunulmuştur.

Tablo 9: Real Time Data ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) Zamana bağlı Değişimi

	Ort	SS	n	p
0.Gün	2,62 ^a	3,56	79	0,027
30. Gün	14,07 ^b	70,48	36	
180. Gün	28,21 ^c	75,80	36	

* $p<0,05$

Zamana bağlı ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) real time data örnekler arasında istatistik olarak anlamlı farklılık vardır (Tablo 9). 0. gün ile 30. gün arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. 0. gün ile 180. gün arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. 30. Gün ile 180. Gün arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. 30. gün 0. Günden 7 kat (fold change) daha fazla real time ortalaması içermektedir. 180. gün 0. Günden 14 kat daha fazla real time ortalaması içermektedir. 180. gün 30. Günden 2 kat daha fazla real time ortalaması içermektedir. Bu ilişkiler Şekil 28'de görsel olarak sunulmuştur.



Şekil 28: Real Time Data ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) zamana bağlı değişimi.

NLRC4 SEKANS LİSTESİ (0. GÜN)																
n:79	1	2	3	4.1			4.2	4.3	4.4			5	6	7	8	9
NORMAL	n: 79	n: 79	n: 79	n: 26			n: 79	n: 79	n: 22			n: 79	n: 79	n: 79	n: 79	n: 79
	Normal	Normal	Normal	Normal			Normal	Normal	Normal			Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
POLİMORFİZM	n:0	n:0	n:0	n:16	n:36	n: 52	n:0	n:	n: 16	n: 41	n: 57	n:0	n:0	n:0	n:0	n:0
	Normal	Normal	Normal	R181R Homozygot	R181R Heterozygot		Normal	Normal	A608A Homozygot	A608A Heterozygot		Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
MUTASYON	n:0	n:0	n:0	n:0	n:1	n:1	n:0	n:0	n:0	n:0		n:0	n:0	n:0	n:0	n:0
	Normal	Normal	Normal	Normal	R181R Het. Ala160Thr Heterozygot		Normal	Normal	Normal	Normal		Normal	Normal	Normal	Normal	Normal

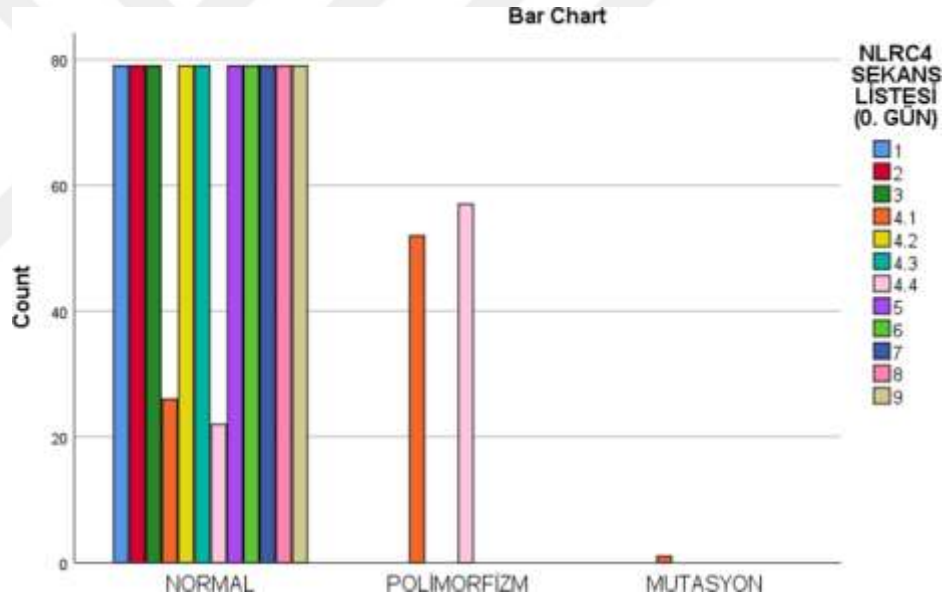
NLRC4 SEKANS LİSTESİ (30. Gün ve 180. GÜN)																
n:36	1	2	3	4.1			4.2	4.3	4.4			5	6	7	8	9
NORMAL	n: 36	n: 36	n: 36	n: 13			n: 36	n: 36	n: 11			n: 36	n: 36	n: 36	n: 36	n: 36
	Normal	Normal	Normal	Normal			Normal	Normal	Normal			Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
POLİMORFİZM	n:0	n:0	n:0	n: 5	n: 17	n: 22	n:0	n: 0	n: 4	n: 21	n:25	n:0	n:0	n:0	n:0	n:0
	Normal	Normal	Normal	R181R Homozygot	R181R Heterozygot		Normal	Normal	A608A Homozygot	A608A Heterozygot		Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
MUTASYON	n:0	n:0	n:0	n:0	n:1	n: 1	n:0	n:0	n:0	n:0		n:0	n:0	n:0	n:0	n:0
	Normal	Normal	Normal	Normal	R181R Het. Ala160Thr Heterozygot		Normal	Normal	Normal	Normal		Normal	Normal	Normal	Normal	Normal

Tablo 10a, 10b: NLRC4 sekans listesi

Tablo 11: NLRC4 Sekans Listesi (0. Gün)

	NLRC4 SEKANS LİSTESİ (0. GÜN)												Total	χ^2	p
	1	2	3	4.1	4.2	4.3	4.4	5	6	7	8	9			
NORMAL	79 _a	79 _a	79 _a	26 _b	79 _a	79 _a	22 _b	79 _a	79 _a	79 _a	79 _a	79 _a	838	460,320	0,001
POLİMORFİZM	0 _a	0 _a	0 _a	52 _b	0 _a	0 _a	57 _b	0 _a	0 _a	0 _a	0 _a	0 _a	109		
MUTASYON	0 _a	0 _a	0 _a	1 _a	0 _a	0 _a	0 _a	0 _a	0 _a	0 _a	0 _a	0 _a	1		
	79	79	79	79	79	79	79	79	79	79	79	79	948		

0. günde normal olan bireylerin NLRC Sekansları arasında 4.1 ve 4.4 diğer sekans türlerinden istatistik olarak anlamlıdır. 0. günde polimorfizmi olanlarda NLRC sekansları arasında 4.1 ve 4.4 diğer sekans türlerinden istatistik olarak anlamlıdır.



Şekil 29: 0. gün NLRC4 sekans çubuk grafiği; normal, polimorfizm ve mutasyonlu bireylerin dağılımı.

Tablo 12: Real Time Data ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) Mutasyon (polimorfizm + mutasyon) olan ve olmayan grup arasındaki ilişkiler

Mutasyon			0	30	180
Mutasyon Yok	0	r		,776*	,692*
		p		0,014	0,039
		n		9	9
	30	r	,776*		,915**
		p	0,014		0,001
		n	9		9
	180	r	,692*	,915**	
		p	0,039	0,001	
		n	9	9	
Mutasyon Var	0	r		-0,057	0,025
		p		0,775	0,901
		n		28	28
	30	r	-0,057		,903**
		p	0,775		0
		n	28		28
	180	r	0,025	,903**	
		p	0,901	0	
		n	28	28	

*p<0,05 **p<0,01

Mutasyon olmayan grupta 0. gün ile 30. gün arasında %77,6'lık biri artarken diğeride artan istatistik olarak anlamlı ilişki vardır. Mutasyon olmayan grupta 0. gün ile 180. gün arasında %69,2'lık biri artarken diğeride artan istatistik olarak anlamlı ilişki vardır. Mutasyon olmayan grupta 30. gün ile 180. gün arasında %91,5'lik biri artarken diğeride artan istatistik olarak anlamlı ilişki vardır.

Mutasyon olan grupta 30. gün ile 180. gün arasında %90,3'lük biri artarken diğeride artan istatistik olarak anlamlı ilişki vardır. (Tablo 12)

Tablo 13: Real Time Data ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) Mutasyon olan ve olmayan grup arasındaki ilişkiler.

		0	30	180
0	r	1	-0,038	0,047
	p		0,825	0,784
	n	79	37	37
30	r	-0,038	1	,901**
	p	0,825		0
	n	37	37	37
180	r	0,047	,901**	1
	p	0,784	0	
	n	37	37	37

*p<0,05 **p<0,01

Herhangi bir mutasyon ayrımı olmadığında 30. gün ile 180. gün arasında %90,1'lik biri artarken diğeri de artan istatistik olarak anlamlı ilişki vardır. (Tablo 13)

Tablo 14: Sekanslar ile Gen kategorileri arasındaki ilişkiler.

		MUTASYON		Toplam
		Mutasyon Yok	Mutasyon Var	
ÖLÇÜMLERİ	Tamamlamamış	n 9	33	42
		% 21,4%	78,6%	100,0%
	Tamamlamış	n 9	28	37
		% 24,3%	75,7%	100,0%
Toplam	n	18	61	79
	%	22,8%	77,2%	100,0%

Çalışmadaki ölçümleri tamamlayanların %24,3'ünde mutasyon yoktur. Ancak çalışmayı tamamlayanların %75,7'sinde mutasyon vardır. Çalışmadaki ölçümleri tamamlamayanların %21,4'ünde mutasyon yoktur. Ancak çalışmayı tamamlamıyanların %78,6'sında mutasyon vardır. (Tablo 14)

Tablo 15: Zamana bağılı ölçümlerde mutasyon varlığı farkı.

	Mutasyon Yok	Mutasyon Var	p
	n=18	n=61	
0.Gün (n=79)	6,9±21,55	2,56±3,7	0,410
30. Gün (n=36)	2,99±6,76	17,62±80,96	0,060*
180. Gün (n=36)	5,21±7,18	35,61±86,09	0,030*

*p<0,05

30. gün ve 180. günde mutasyon olan olmayan grup arasında real time ölçümleri bakımından istatistik olarak anlamlı bir farklılık vardır. (Tablo 15)

5. TARTIŞMA

Metal alerjisi, bağışıklık sisteminin metallere karşı vermiş olduğu geç tip alerjik reaksiyondur. Yaşadığımız çağda, modern yaşam ve ağır sanayinin ürünleri olan metallere karşı cilt hassasiyeti ve metal alerjisinde önemli artışa yol açmıştır. En çok kullanımda olan kobalt, krom ve nikel üzerine odaklanılmıştır (51,58,60,64,65). Bu metaller her yerde bulunur. Metal kaynaklı alerjilerde (58,189), alerjen maddenin teması olan bölgede kontakt dermatit gözlenebileceği gibi yaygın sistemik kontakt dermatit de izlenebilir. Alerjik cevaplarda, gözlenen en büyük problem ortopedi, diş hekimliği veya damar hastalıklarında kullanılan implant ile stentlerin kabul olmaması nedeniyle, implantın başarısızlıkla sonuçlanmasıdır. Günümüzde sıklıkla kullanılmakta olan metal implantlarla ilgili hala metal salınımı, aşırı duyarlılık ve mekanik arıza arasındaki ilişkiye dair fazla bilgi yoktur. (51)

İnsan vücudunda kullanılmakta olan implantlar, vücut içi sıvılarla temasta bulunduklarında bu metallerin çoğunluğu korozyona uğrayabilmekte (20), ortamda açığa çıkan metal iyonları vücut içindeki proteinlere bağlanabilmekte ve T hücrelerini harekete geçirebilmektedir. Bu şekilde, immün sistem üzerinde geç tip alerjik reaksiyonların görülmesine yol açılabilmektedir. Metal alerjisinin (58), ortopedik implant başarısızlığının bir nedeni olduğunu belirten çok sayıda rapor (13,14,16-18,43,49,51,60,64-66) mevcuttur; Nikel, Krom ve Kobalt önemli alerjenler olarak bildirilmiştir (51,58,60,64,65). Geç tip alerjik reaksiyonlar bazı zamanlarda implantların üzerinde bulunan deride alerjik kontak dermatite neden olabilir ya da bu implantların başarısızlığına sebep olabilir. Ortopedide kullanılan protezler krom, kobalt ve molibden içerikli malzemelerden oluşur. Günümüzde hızlı bir şekilde artan metale aşırı duyarlılık ile implant başarısızlığı arasında bir ilişki olabileceğine işaret eden araştırmalar bu durumla ilgili endişenin artmasına neden olmaktadır. Kalça artroplastisi hastaları üzerinde metal alerjisine dair yapılmış olan çalışmalarda prevalansın, başarısız ya da kötü çalışan implantlara sahip hastalarda yaklaşık %60 olduğu gözlenmektedir. (14,51)

Krom, kobalt, nikel (65,189) ve molibden'e karşı alerjik reaksiyonların varlığı ortaya koyulmuştur. İmplant fonksiyonu bozukluğunun nedenlerinden biri olan alerjik

reaksiyon komplikasyonları haricinde az rastlansa da aseptik lenfositik vaskülitik lezyonlara ya da psödötümörler gibi önemli klinik reaksiyonlara sebebiyet verdiği bilinmektedir. Bu tür durumlarda implantların, titanyum içerikli endoprotezler ile değişimi yapılabilir. Bunun yanı sıra titanyum içerikli implantların konumlandırılmasının ardından aşırı duyarlılık reaksiyonlarından da bahsedilmiştir fakat titanyuma olan alerjiye ender rastlanmaktadır. (51)

Krom-kobalt alaşımlarının kullanımına bağlı olarak alerjik yan etkilerin oluşabilmesi kaygı uyandıran bir durumdur. Vücuda salınabilen metal iyonları, nikel gibi metallere alerjisi olan hastalarda, çeşitli tepkilere neden olabilir. Metale karşı bağışıklık tepkileri ve alerjen yan etkiler meydana gelebilir. Nikel, krom ve kobalt en sık alerjenik yan etki oluşturan metallerdir (51,58,60,64,65). Krom-kobalt alaşımlardan daha az olsa da titanyuma karşı **metal alerjisi ve hassasiyeti** söz konusudur (51). Diz protezindeki metal alaşıma karşı oluşan alerjik duyarlılık deride egzama benzeri döküntüler veya dokuda iltihaplanma, eklem bölgesinde aşırı duyarlılık, devam eden ağrılar, şişme, sertlik, nadiren de olsa kaşıntı, saç dökülmesi, astım gibi belirtilerle ortaya çıkabilir. (60)

Metal diz protezi yapılmış hastaların 2 yıllık takibi sonucunda, 22 hastanın 19'unda kanda yüksek seviyede Cr ve Co iyonları saptanmıştır. Metal alerjisi olan bireyler için bu çok önemli bir sorundur. (17)

Homojen olmayan metal oksit kristallerinin çözünmesi sonucunda ortaya çıkan metalik iyonlar, proteinlerle birleşerek antijen haline gelebilmektedir (190). Oral kavitede kullanılan metallerin alerjik ve toksik reaksiyonlara neden olmaktadır. Fakat bu durumun ortaya çıkabilmesi için metal iyonlarının açığa çıkması gereklidir. Metal iyonları, korozyon ile ilişkilidir. Korozyon sonucu metal iyonları açığa çıkar. (13)

Ortodontik sabit mekanikleri oluşturan malzemeler kabaca braketler ve tellerden oluşur. Braketler ve halkalar dişe yapıştırılırken, teller ise tüplerden ve braket slotlarından geçer ve ligatür telleri ile braketlere bağlanırlar. Bu sayede teller, aktifleşirler ve sahip oldukları gerilim kuvvetleri ile dişlerin hareket etmesini sağlarlar. Bu yoğun metal yapı, ağız içinde istenilen biyomekanik performansı sağlayabilmek için zorunlu olarak çeşitli alaşımlardan oluşmaktadır, çünkü tek bir metal, ağız ortamında istenilen performansı sağlayamamaktadır. Ancak istenilen

durumun, ihtiyaç duyduğu yüksek performansı elde edebilmek için, o iş ve işleme uygun verimliliği ancak biraraya gelebilen çeşitli metaller sağlayabilmektedir. İşte alaşım olarak adlandırılan ve birçok metalin biraraya gelmesi ile oluşan ve istenilen işe uygun şekilde performans oluşabilmesini sağlayabilen bu yapı, günümüzde çağdaş ortodonti klinik alanında önemli bir rol oynamaktadır.

Metal alaşımlar, ortodonti alanında yeterli biyomekanikler oluşturabilme performansına rağmen bu malzemeler ağız ortamı gibi çok değişken bir ortamda olumsuz şartlar altında çalışmaktadır. Çünkü ağız içi pH ve sıcaklığın sürekli olarak değişmesi; çeşitli sertlikteki gıdaların çiğnenmesi ve bunların oluşturduğu sürtünme etkisi sonucu ortaya çıkan travmatik kuvvetler; zengin ağız florası ve tükürük gibi faktörlerin bir arada, yedi gün yirmidört saat çalışması ile ağız içi mekaniklerde görev alan alaşımların korozyon uğraması sonucu iyon salınımı (49,65,66) ortaya çıkar. Bu korozyon sonucu ortaya çıkan ağır metallerin çevre dokular üzerinde patolojik etkileri olduğu her geçen gün yapılan çalışmalarla ortaya konmaktadır (13-16,43, 51,56,60,66). Bu ağır metallerin alerjik etkiler oluşturması sonucu ortaya çıkan çeşitli düzeydeki kronik enflamasyonlar; sitotoksik etkiler ve DNA hasarlarından bahseden çalışmalar giderek artmaktadır (18,49,60,64,65). Bu durum çeşitli dermatolojik sonuçlarının yanında implant protezlerin değiştirilmesi ile sonuçlanan operasyonlara da neden olmaktadır. Diş hekimliğinde kullanılan implantların tamamının biyoyumumluluğu yüksek titanyum gibi bir metal ve çeşitli kaplamalarla birlikte kullanılması sorunların hem daha az ortaya çıkmasına hem de genellikle fark edilmemesine neden olmaktadır. Ayrıca az rastlanılmasına rağmen titanyuma karşı da alerji gelişebilmektedir. (51) Bununla birlikte ortodontide yeterli biyomekanik performansı sağlayabilmek için ağız içinde çok çeşitli alaşımlar kullanılmaktadır; yapılan çalışmalar bu malzemelerden önemli oranda ağır metal iyonlarının ağız içine salındığını göstermektedir (18-20,49,58,65,66).

Yaptığımız kaynak taraması sonucunda NLRC4 İnflamazom yolağı ile ilgili genel olarak az sayıda araştırmaya (100,101,112-117,129,131,132,134,135,137-142,147-149,152,154,158-164,166) rastlarken, NLRC4 ve Ortodonti ilişkisi ile ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlayamadık. Ortodontik malzemeler, ortodontik tedavi sürecinde oluşan korozyon sonucu ağız ortamına ağır metallerin salınmasına neden olduğu ve bu metallerin alerjik, sitotoksik ve DNA üzerine oluşturabileceği moleküler

düzeydeki etkilerden dolayı oluşabilecek durumu aydınlatabilmek için bu çalışma tasarlanmıştır.

Bağışıklık sistemi, vücudu patojenlerden koruyan ve içsel bir düzensizlik durumunda homeostatik dengeyi sağlayan kompleks ve dinamik bir mekanizmalar bütünüdür. Patojenlere karşı savunmadaki rollerinin yanı sıra bağışıklık sistemi, sinir sistemi ve çeşitli metabolik sistemlerle iç içe geçmiştir ve antikör üretiminden dokuların yeniden düzenlenmesine kadar uzanan karmaşık ve çok boyutlu süreçlerden meydana gelmektedir. Bağışıklık sistemi, doğal bağışıklık ve edinsel bağışıklık adı verilen birbiriyle iç içe geçmiş iki ayrı kategoriye ayrılmıştır. Doğal bağışıklık daha hızlı ve büyük boyutlu bağışıklık yanıtlarından meydana gelirken edinsel bağışıklık patojenlerle etkileşime geçtiğinde (doğal bağışıklık sistemiyle de ilişki içerisinde olarak) bu patojenlere karşı spesifik yanıtlar geliştirir. Buna ek olarak, edinsel bağışıklık daha önce etkileşime geçtiği patojenlere karşı savaşmak üzere hafıza mekanizması geliştirmektedir. Doğal bağışıklık yanıtları çoğunlukla Patern Tanıma Reseptörleri (PRR) adı verilen korunmuş ama sınırlı bir reseptör dizisi tarafından düzenlenir. (166)

Enflamasyon; bağışıklık sisteminin, vücut dışından veya içinden gelen her türlü saldırıya verdiği cevaptır (10). Bunun nedeni; harabiyete sebep olan etken maddeyi ve ortaya çıkan ürünleri yok etmek, bulundukları bölgede tutmak, kontrol altına alınmasının ardından, harabiyete uğramış dokunun tamiri ve yenilenmesini yardımcı olmaktır (73-75).

Eozinofiller, hücre dışı parazitlere karşı savunmada ve alerjik yanıtların geliştirilmesinde önemli rollere sahiptir. Çok etkili bağışıklık yanıtları geliştirmelerinden ötürü, eozinofiller insan kanındaki akyuvar hücrelerinin yalnızca %1-6'sını meydana getirmektedir. Her ne kadar NLRC4 ve NLRP3 proteinleri diğer alanlarda ve akyuvar hücreleri bağlamında yoğun bir şekilde çalışmış olsalar da bu proteinlerin eozinofilik fonksiyonları nasıl şekillendirdikleri diğer akyuvar hücrelerine göre pek bilinmemektedir. (166)

Bu çalışmada esas olarak NLR'lerin etkileri gözönüne alınmıştır. NLRP3 ve NLRC4 bu reseptör ailesinin en çok çalışılan reseptörleri olduğundan ve inflamazomlar olarak adlandırılan, devasa protein kompleksleri oluşturduğu bilindiğinden dolayı bu araştırmada NLRC4'e odaklanılmıştır.

NLRC4 aktivasyonunun eozinofilik işlevler üzerindeki etkisi, alerjik yanıtların düzenlenmesine, yeni yanıtlar sağlamanın yanı sıra, yeni sorular yaratır. IL-5Ra ve NLRC4 aktivasyonu arasındaki karşılıklı ilişki ve TLR sinyallemesinin pozitif etkileri, alerjik ve eozinofilik yanıtların yeni potansiyel aracıları olarak PRR'leri ve NLRC4 inflamazomunu ortaya koyar. (166)

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel olarak işlenmesi sonucu elde edilen bulgular, korozyon ile enflamasyon arasındaki ilişkiye ışık olmuştur.

Ölçümler sonucunda elde edilen verilerin normal dağılıma uygun olduğu ve homojen dağıldığı saptanmıştır. ACTB (house keeping) değişkeni için farklı zamanlardaki ölçüm sonuçlarının dağılımın, normal dağılıma uygun olduğu anlaşılmıştır. Çalışma materyalinde, büyük bir varyasyon olmadığı belirlenmiştir. Yoğunluklarının homojen dağıldığı söylenilebilir. Elmas grafik; üçgenler aynı hizada olduğundan ve çok büyümediğinden dolayı, veride büyük bir kalibrasyon farkı olmadığını ifade etmektedir.

Bulgular incelendiğinde NLRC4 ölçümleri, zamana göre farklılık göstermektedir (Tablo 5). Boylamsal olarak değişim istatistiksel olarak anlamlıdır. Tüm ölçüm zamanları arasında anlamlı farklılıklar bulunmaktadır. ACTB değişkenini boylamsal ölçümleri zamana göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir ve zamana bağlı değişimlerin arasındaki farklılıklar istatistik olarak anlamlı değildir.

NLRC4 ölçümleri arasındaki ilişkilerin incelenmesi sonucunda ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönlü güçlü ilişkiler bulunduğu görülmektedir. (Tablo 6)

ACTB ve NLRC4 ölçümleri arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir (Tablo 8). ACTB ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında; G2-NLRC4 ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında; G2-ACTB ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında; G3-NLRC4 ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında; G3-ACTB ölçümü ile NLRC4 ölçümü arasında; G2-NLRC4 ölçümü ile ACTB ölçümü arasında; G2-ACTB ölçümü ile ACTB ölçümü arasında; G3-NLRC4 ölçümü ile ACTB ölçümü arasında G3-ACTB ölçümü ile ACTB ölçümü arasında; G2-ACTB ölçümü ile G2-NLRC4 ölçümü arasında; G3-NLRC4 ölçümü ile G2-NLRC4 ölçümü arasında; G3-ACTB ölçümü ile G2-NLRC4 ölçümü arasında; G3-

NLRC4 ölçümü ile G2-ACTB ölçümü arasında; G3-ACTB ölçümü ile G2-ACTB ölçümü arasında ve G3-NLRC4 ölçümü ile G3-ACTB ölçümü arasında pozitif yönlü istatistik olarak anlamlı ilişki vardır. (Şekil 27)

Zamana bağlı ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) real time data örnekler arasında istatistik olarak anlamlı fark vardır. 0. gün ile 30. gün arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. 0. gün ile 180. gün arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. 30. gün ile 180. gün arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. 30. gün 0. günden 7 kat daha fazla real time ortalaması içermektedir. 180. gün 0. günden 14 kat daha fazla real time ortalaması içermektedir. 180. gün 30. günden 2 kat daha fazla real time ortalaması içermektedir.

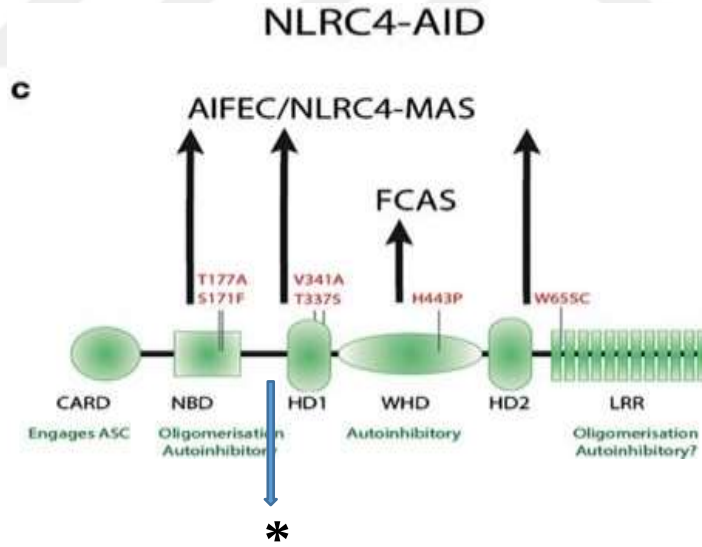
Mutasyon olmayan grupta 0. gün ile 30. gün arasında NLRC4 GEN ekspresyonu %77,6 'lık biri artarken diğeride artan istatistik olarak anlamlı ilişki vardır. Mutasyon olmayan grupta 0. gün ile 180. gün arasında NLRC4 GEN ekspresyonu %69,2 'lık biri artarken diğeride artan istatistik olarak anlamlı ilişki vardır. Mutasyon olmayan grupta 30. gün ile 180. gün arasında NLRC4 GEN ekspresyonu %91,5 'lik biri artarken diğeride artan istatistik olarak anlamlı ilişki vardır.

Mutasyon olan grupta 30. gün ile 180. gün arasında NLRC4 gen ekspresyonu %90,3'lük biri artarken diğeride artan, istatistik olarak anlamlı ilişki vardır. Herhangi bir mutasyon ayrımı olmadığında 30. gün ile 180. gün arasında NLRC4 gen ekspresyonu %90,1'lik biri artarken diğerinde de artan istatistik olarak anlamlı ilişki vardır. Çalışmadaki ölçümleri tamamlayanların %24,3'ünde her hangi DNA değişimi yoktur. Ancak çalışmayı tamamlayanların %75,7'sinde polimorfizm karakterinde DNA değişimleri vardır. Çalışmadaki ölçümleri tamamlamayanların %21,4'ünde her hangi DNA değişimi yoktur. Ancak çalışmayı tamamlamayanların %78,6'sında polimorfizm karakterinde DNA değişimleri vardır.

30. günde ekspresyon değişmiştir. İki çeşit polimorfizm mevcuttur. 180 günde polimorfizmi olan ve olmayan arasında farklılık mevcuttur. 30. gün ve 180. günde polimorfizm olan ve olmayan grup arasında real time ölçümleri bakımından istatistik olarak anlamlı bir farklılık vardır.

0. günde normal olan bireylerde, NLRC4 sekansları arasında 4. ekzon (4.1 ve 4.4), diğer sekans türlerinden istatistik olarak anlamlıdır. 0. günde polimorfizm olanlarda NLRC4 sekansları arasında 4. ekzonda (4.1 ve 4.4) diğer sekans türlerinden istatistik olarak anlamlıdır. 30. ve 180. günde normal olan bireylerde NLRC4 Sekansları arasında 4. ekzonda (4.1 ve 4.4) diğer sekans türlerinden istatistik olarak anlamlıdır. 30. ve 180. günde polimorfizm olanlarda NLRC4 Sekansları arasında 4. ekzonda (4.1 ve 4.4) diğer sekans türlerinden istatistik olarak anlamlıdır.

İnflamazomlar, sitoplazmada bulunan hücresel hasarı ve patojenleri tespit eden algılayıcılardır. NLRP3, NLRC4 ve AIM2 enflamazomlarının uyarılması sonucu hücre çekirdeğinin yanında mikrometre boyutlarında ASC zerresi adında, inflamazom aktivitesinin gerçekleştiği platform olduğu düşünülen bir yapı oluşmaktadır. (191) Kontrol grubunda hastalıkla ilişkili NLRP12, PLCG2, NLRC4 geninde hiçbir mutasyona rastlanmamıştır. Fakat bizim çalışmamızda, 4. ekzonun ilk kısmında 1 mutasyona (Şekil: 30) ve 4. ekzonun ilk ve son kısımlarında toplam 2 farklı polimorfizme rastlanmıştır.



Şekil 30: NLRC4 proteinin farklı domainlerindeki mutasyonların neden olduğu hastalıkların [1-) Yeni doğanda kolit (AIFEC), 2-) Makrofaj Aktive Sendromu (NLRC4-MAS), 3-) Familyal Cold Induced Autoinflamator Sendrom (FCAS) (4 klinik tipinden 3.'südür)] şematik yapısı (165). Çalışmamızda bulduğumuz mutasyon* NBD1-HD1 arasındaki bölgeye denk gelmektedir.

NLRC4'ün alerjik tepkilerle daha yakından ilişkili olduğunu, TLR sinyalinin ise EoL-1 hücrelerinde daha genel, global bağışıklık tepkilerini teşvik ettiğini varsaymak mümkündür. Bununla birlikte, PRR'lerin genel olarak birçok alerji ile ilgili ve eozinofile özgü genlerin ekspresyonunu teşvik etmede rol aldığı sonucuna varılabilir. Bu nedenle, PRR'lerin ve diğer reseptörlerin (IL-5Ra, IgE'nin Fc epsilon reseptörlerine bağlanmasının etkisi) sinyalleri yoluyla ekspresyon modellerinin nasıl etkilendiğine ve NLR'lerin etkileşimi hakkında bilgi sahibi olmamıza yardımcı olmakadır. (166)

Kuhta ve ark. (192), yaptıkları araştırmada SS, Ni-Ti ve termo Ni-Ti telleri yirmi sekiz gün süresince değişik pH değerlerinde suni tükürük içerisinde bekletmiş ve bu tellerden krom, titanyum, demir, nikel, çinko ve bakır iyon salınımı olduğunu; en çok ilk yedi günde görüldüğünü, sonrasında azaldığını raporlamıştır. Bizim çalışmamızda, otuzuncu günde NLRC4 oranının en yüksek bulunması, Kuhta ve ark.'nın araştırma sonuçları ile ayrıca Kasap ve ark. (80)'nin da belirttiği gibi 1-10 haftada antikor seviyesi en yüksek seviyeye çıkar bulgusu ile uyumludur.

Biyolojik uyumluluğu açısından ark telleri çoğunlukla metal kompozisyonlarıyla ifade edilmektedir (189). Krom, kobalt, demir, bakır ve nikel gibi ağır metaller ark teli yapımında kullanılmakta ve serbest radikaller oluşturmaktadır (193,194).

Bu konuya dair yapılan araştırmalarda, David ve Lobner (195), SS tellerin sitotoksik ve nörotoksik olduklarını; Bishara ve ark. (196) ise Ni-Ti tellerin SS tellerden daha az sitotoksik olduğu ancak en minimal sitotoksik etki gösteren telin Bioforce Sentalloy olduğuna değinmiştir. Sfondrini ve ark. (197) ise biyoyumluluğu en fazla olan telin SS olduğu, en düşük telin Ni-Ti olduğunu belirtmiş, fakat tüm ark tellerinin oksidatif stres kaynağı olduğundan bahsetmiştir.

Ni-Ti tel üreticileri arasında, özellikle alaşım oranlarında, kimyasal ve faz yapılarında farklılıklar mevcuttur. Bu durum korozyon mukavemetini de etkilemektedir. Ostenit faz yüksek olduğu için nikel miktarı yüksek alaşımlarda, iyon salınımı fazladır. Ağız ısısında (37°C), martensit fazı olan NiTi alaşımlar, düşük iyon salınımı yaptığı ve korozyon mukavemetinin fazla olduğu belirtilmiştir. (198) Ortodontide kullanılan NiTi alaşımlarında gözlenen en büyük sorun, ark tellerinde korozyon oluşması sonucu meydana gelen kırılmalar ile salınan nikel iyonlarıdır (199).

Trombelli ve ark. (66) sabit ortodontik tedavi uygulamasıyla günlük ortalama 40 mikrogram nikel çıkışı olduğunu, ancak yine de ortodonti hastalarında raporlanmış nikel bağı kontakt dermatit vakasının az sayıda olduğunu belirtmiştir.

Kaynaklar ve bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular, ortodontik tedavide kullanılan çeşitli tel, braket, yay, vida vb. sabit mekanik malzemelerin, ağız içi ortamda korozyona uğrayarak enflamasyona neden olduğu kanatine varmamıza neden olmuştur. Bu önemli durumun semptomlarının, ortodonti klinigine yansımalarının çok az olması ayrı bir konu oluşturmaktadır. Bilindiği üzere periodontal hastalıklar genellikle ağrı oluşturmazlar, bu durum hastaların genellikle farkına varsalar bile bu sorunun tedavisine gerekli ilgiyi göstermemesine neden olmaktadır. Bu tutum, periodontal hastalıkların dünya genelinde en yaygın hastalıklarından birini oluşturması için önemli bir alt yapı sağlamaktadır. Malesef, aynı durum ortodontik sabit mekaniklerin oluşturduğu enflamasyon için de geçerlidir. Ortodontik sabit mekaniklerin, oluşturduğu enflamasyonun hastayı rahatsız eden önemli bir semptomunun genellikle olmaması ve bu durumun klinisyenlerin ve araştırmacıların ilgisini ve dikkati çekmemesi sonucunda, bu konunun yeterince araştırılmamasına, kısaca bu durumun ihmal edilmesine neden olmuştur.

Ortodontik tedavi mekaniklerini oluşturan materyallerin korozyon sonucu, ağız ortamına ağır metallerin salınmasına neden olması ve bu durumun gen ekspresyon üzerine etkilerinin oluşabilmesi, malzeme üreticileri ve ortodonti klinisyenlerinin bu konu üzerine ağırlıklı bir şekilde yönelmesine zemin oluşturmaktadır. İşte bu amaçla ortodontistlerin bireysel olarak klinik uygulamalarında özen göstermesi gereken ince detaylar da giderek artan dozda şekillenebilecektir. Bu nedenlerden ötürü ortodontistler mevcut klinik ve materyal bilgilerini tekrar gözden geçirmeyi düşünebilecektir.

Ortodontik tedavide korozyondan korunma:

Korozyon, metallerin çevre ile yaptığı elektrokimyasal tepkimeler sonucunda metalik özelliklerini kaybetmesidir. (1)

Korozyon, metalin mevcut ortamda yüzeyden derinliklere doğru ilerleyen kimyasal veya elektrokimyasal tepkimeler sonucunda özelliklerini (aşınması / değişikliğe uğraması) kaybetmesidir (200). Diş hekimliğinde kullanılan tüm metal malzemeler ağız ortamında tükürük, yiyecek ve içeceklerin etkisiyle korozyona maruz

kaldığı belirlenmiştir. Soy metallerin, korozyon direncinin fazla olduğu, diğerlerinin ise malzemenin yüzeyinde oluşan pasif oksit tabakası ile ilişkili olarak korozyon direncinin değiştiği bilinmektedir. (201) Krom, kobalt ve nikel en çok korozyon gösteren metallerdir (197).

Metallerin korozyon rezistansında birçok etmen rol oynamaktadır. Bunlar; alaşımın kimyası, metal içeriği, tükürüğün içeriği, tükürüğün tamponlama kapasitesi, mikrobiyal dental plak etkisi, oluk sıvısı, beslenme alışkanlıkları, oral hijyen, tesviye ve polisaj işlemleri ile kompozisyon olarak sıralanabilir. (202,203)

Paslanmaz çelik tel ısıtıldığında, bükümle şekillendirildiğinde ve metal parçalar ısıyla birleştirildiğinde, paslanma (yüzey oksidasyonu) olabilir ve pürüzlü oksit film tabakası sadece bulunduğu bölgede korozyona neden olabilir. Metalin korozyon derecesi ve salınan iyonlar, çözücü materyalin kimyası ve solüsyonun pH değeriyle ilişkilidir. Kuhta ve ark. (192) yaptıkları araştırmada SS, Ni-Ti ve termo Ni-Ti telleri yirmisekiz gün süresince değişik pH değerlerinde suni tükürük içerisinde tutmuş ve bu tellerden krom, titanyum, demir, nikel, çinko ve bakır iyon salınımı olduğunu raporlamıştır. İyon salınımının en çok ilk yedi günde görüldüğünü, sonrasında ise azaldığını bildirmiştir. Ph'nin 6.75'ten 3,5'a düşmesinin iyon açığa çıkışını ortalama 37 kat artırdığı, en çok çıkan iyonun krom, en az çıkan iyonunsa titanyum olduğunu belirtmiştir. (25,192) Ortodontik tedavi gören bireylere uygulanan sabit mekaniklerde mümkün olduğunca büküm yapmaktan ve heat treatment etkisinden korozyona zemin oluşturduğu için uzak durmak hedefiyle prefabrik tel tercihinde yoğunlaşılabilir. Ayrıca ortodontik tedavi görmekte olan bireylerin asidik içeceklerden uzak durmasının, klasik hasta bilgilendirmesi ve yönlendirme terminolojisinde dillendirdiğimiz **“Dekalsifiye Odakların Ve White Spot Lezyonların Gelişmemesi İçin Asitli İçecekler Kullanmayın”** mottomuzun, korozyonun şiddetlenmesinin önüne geçilebilmesinde çok önemli düzeyde etki edebilmesi de çok sevindiricidir. Çalışmamızın sonuçları, bize asidik içeceklerden uzak durmanın DAMP oranını azaltacağını ve böylece NLRC4 inflamazomunun aktivasyonu negatif yönde etkileyeceğini ve dolayısıyla steril kronik enflamasyonun oranını da düşüreceğini göstermiştir.

Üreticiler, alaşımların korozyona direncini arttırmak için ortodontik tel alaşımlarının yüzeylerini *titanyum nitrit* ve *epoksi rezin* (ER) malzemesi ile kaplamayı düşünmüştür (50). Alaşımlara eklenen krom iyonları elektrokimyasal pasif bir film tabakası meydana getirir, ağız ortamındaki agresif iyonlara karşı savunma görevini yerine getirir ve bu şekilde korozyonun önüne geçer (20). Bu yüzden SS ve krom içeren alaşımlar kolayca korozyona uğramazlar.

Kullanılacak malzeme seçilirken mekanik özelliklerine bakılmalıdır. Metal malzemeler, ortamda galvanik etkileşime girebileceğinden dolayı günümüzde kullanımda olan nikel titanyum alaşımlardan üretilen teller kullanılırken dikkat edilmelidir. Korozyonu etkileyebilecek bir diğer faktör de tasarımdır. Girinti çıkıntıların varlığı anodik etkiye neden olacağından dolayı, olmamasına özen gösterilmelidir. Malzeme yüzeyinin pürüzlü olmamasının gerekmesinin nedenleri arasında, telin braket kanalı içerisinde hareket kısıtlılığı yapması ve bunun sonucunda mekanik yönden olumsuz etkileneceği ve korozyona direncini azaltacağını sayabiliriz. Bunların haricinde, büküm yapımı sonucunda gerilmeyi azaltmak için en azından kontrollü ısıtılma işlemi uygulanmalı ve gerilme oluşturabilecek köşelerden uzak durulmalıdır. Tel yüzeyinin korozyona karşı direnç katsayısı oldukça fazla olan seramik, polimer veya titanyum oksit benzeri materyallerle örtülmesiyle, korozyon direnci yüksek teller oluşmaktadır. Ortodontik tedavi sırasında bu tellerin kullanılması neticesinde korozyona neden olan ürünlerin etkilerinden korunabilir. Çevrenin sıcaklığı, o ortamda bulunan tuzlar, iyonlar ve pH değeri korozyon hızına etki eden faktörlerdir. İstenilen koşulların gerçekleştirilmesi, tedavi gören hastanın bilinçlendirilmesiyle gerçekleştirilebilir. Örneğin sıcaklık artışına karşı alınan tedbir, bireye sıcak içecek etkilerinin ve alım şeklinin anlatılmasıyla alınabilir. Asidik ortam önlemi ise beslenme ve ağız temizliğiyle ilgili bilgi verilmesi ile bireyin beslenmesine dikkat etmesi ve kurallardan bahsedilerek alınabilir. (1)

Kao ve ark. (204), yapmış oldukları in vitro araştırmada, insan osteosarkom hücre dizisine SS ve nikel titanyum tellerin etkilerini, flor solüsyonuyla ilişkili korozyona göre araştırmıştır. Nikel titanyum ve SS ark telleri, asidik karakterli sodyum florür içeriğine sahip yapay tükürükte sitotoksik etkiye neden olmuştur. Ortodontik tedavi gören bireylerde, içeriğinde flor bulunan ajanlar uygulanırken dikkat edilmesi

ve toksik etkiyi önlemek adına flor uygulamasından önce ark telinin çıkarılması tavsiye edilmiştir. (204)

Kobayashi ve ark. (72), nikel titanyum ark telinin DLC (Diamond Like Coating) film ile kaplanması sonucu açığa çıkan nikel miktarının 6 kat azaldığını belirlemiştir.

Ortodontik tedavi süresince braket, tel, yay ve vida benzeri malzemelerin ağız boşluğuna uygun malzemelerden oluşturulması, tedavide korozyona uğramadan ve mekanik özelliklerini koruyarak kullanılabilir olması gerekmektedir (1).

NiTi alaşımlarında rastlanılan en önemli sorun, tellerde korozyon ile ilişkili gerçekleşen kopmalar ve ortama salınan nikel iyonlarıdır (199). Ostenit faz, nikel oranının yüksek olduğu alaşımlarda yüksek olup iyon salınımı fazladır. Bununla birlikte, ağız ısısında (37°C) martensit fazı olan NiTi malzemenin düşük iyon salınımı yaptığı ve korozyon rezistansının yüksek olduğu belirtilmiştir. (198)

Bu çalışmada, ağız içinde kullanılan malzemelerin enflamasyon yaptığı ile ilgili oluşan bulgular, enflamasyona farklı bir moleküler bakış açısı getirerek, NLRC4 inflamazom yolağı üzerinde (tetikleyici tiffinoryum toksini) oluşan hasarın sorumlusu olduğu ortaya konulmuştur.

Ortodontik tedavi amacıyla ağız içinde kullanılan materyal, steril kronik enflamasyona neden olmaktadır. Ortodontik malzemelerden çıkan materyal, DAMP'tır. Bu DAMP, NLRC4 inflamazom yolağını aktive ederek gen ekspresyonunu artırmaktadır.

DNA'nın yapısındaki değişim, RNA'nın ekspresyon düzeyine yansımaktadır. Ortodontik materyalin içeriğindeki bileşenler DAMP olabilmektedir. Bu DAMP, bu çalışmada NLRC4 inflamazom yolağını aktive etmektedir. Bu aktivasyon, ağızda lokal otoenflamasyonla son bulmaktadır.

Genetik olarak yapılmış olan çalışmalar, ortodontik malzemelerin korozyon sonucu ağız içi ortamda ağır metal salınımı olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda ise, bu durumun moleküler düzeydeki etkileri saptanmıştır. Bununla birlikte, ortopedi de endoprotezdeki alerji oranları yüksek olmasına ve geri bildirimin çok olmasına rağmen, ağız içindeki alerjik reaksiyonlarda geri bildirim oranları ve literatürdeki vaka bildirimleri çok azdır. Ağız içi dokuları fizyolojik olarak dış uyaranlara açık bir konumda bulunmaktadır ve dış uyaranlara karşı dirençlidir. Bunun getirdiği bir sonuç

olarak, vücut içine yerleştirilen materyallere oranla ağız içine yerleştirilen materyallere karşı konak savunması daha toleranslı ve dirençli olabilme olasılığını bize düşündürmektedir. Ortodonti hastalarına söylediğimiz «Asitli İçeceklerden Uzak Durun» mottomuzun alt yapısı, artık sadece White spot lezyonlarla karşılaşmamak için değil, bununla birlikte steril kronik enflamasyon oranlarını azaltabilme gerekçesi ile de daha güçlü bir şekilde dolacaktır. Yeni mottomuz, «**Steril Kronik Enflamasyonlardan Uzak Durmak İçin Asitli İçeceklerden Uzak Durun**» şeklinde olacaktır.

«Ortodontik Tedavinin Başarısı, Teşhis Ve Tedavinin Doğru Yapılmasına Bağlıdır» mottomuzu bundan sonra «**Ortodontik Tedavinin Başarısı, Teşhis, Malzeme Seçimi Ve Tedavinin Doğru Yapılmasına Bağlıdır**» şeklinde olacaktır.

İlerde bu materyalin yaptığı hasarları yani steril enflamasyon - oto-enflamasyonu inhibe edici farmakolojik ajanların kullanımını gündeme getirecektir. Yani anti-inflamazom moleküllerinin, lokal ya da sistemik tedavide kullanımı gündeme gelecektir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu Araştırmada,

- 1) Çalışmaya katılmayı kabul eden 79 bireyde, çalışma başında yani 0. günde NLRC4 geninin tüm kodlanan 9 ekzonu DNA dizi analizinde çalışılmıştır. 4. ekzon çok büyük olduğundan, bu ekzon 4 test şeklinde parçalanarak sekanslanmıştır,
- 2) Her hastaya 12 adet DNA dizileme analizi yapılmıştır,
- 3) NLRC4 geninde, 4. ekzon dışında hiçbir nükleotid yer değişimi saptanmamıştır,
- 4) Doğal bağışıklık sisteminde yer alan genler çok konservatif ve evrimsel görevleri olan protein kodladığından, bu genlerde çok nadir nükleotid yer değişimi ve takiben missense aminoasit mutasyonu izlenmiştir,
- 5) 2 adet sinonim aminoasit mutasyonu ve **1 adet missense mutasyon NLRC4 genin 4. ekzonunda saptanmıştır. Bulduğumuz yeni mutasyon, NBD1-HD1 arasında yer almıştır,**
- 6) 52 bireyde R181R ve 57 bireyde A608A polimorfizm ile 1 bireyde missense Ala160Thr mutasyonu saptanmıştır,
- 7) 52 Bireyde R181R ve A608A polimorfizmi birlikte saptanmıştır,
- 8) 36 bireyde R181R heterozigot, 16 bireyde homozigot saptanmıştır,
- 9) 41 bireyde A608A heterozigot, 16 bireyde homozigot saptanmıştır,
- 10) 79 hastaya ortodontik materyal uygulanmadan önce NLRC4 mRNA ekspresyonu çalışılmıştır; iç kontrol olarak ACTB mRNA kullanılmış,
- 11) 30. gün ve 180. günde, elde edilen NLRC4 mRNA değerleri, 0. güne oranla istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir,
- 12) Ortodontik materyal kökenli moleküllerin bir DAMP olarak NLRC4 inflamazom yolağını aktive ettiği düşünülmektedir.
- 13) NLRC4 geninde DNA değişimi pozitif olanlarda mRNA değerleri, negatif gruba oranla anlamlı arttığından dolayı NLRC4 geni DNA yapısında herhangi bir nükleotid yer değişiminin gen ekspresyonunu up-regüle ettiğini düşündürmektedir.
- 14) Tüm ölçüm zamanları arasında anlamlı farklılıklar bulunmaktadır. Genel olarak datalarda en yüksek ölçüm ortalaması, 2. ölçümde, en düşük ölçüm ortalaması

ise 3. ölçümde elde edilmiştir. 30.gün ile 180. gün arasındaki süre uzaması sonucu ortaya çıkan fark, muhtemelen korozyon miktarının azalmasına bağlıdır.

- 15) Ortodontik tedavi esnasında ağız içinde kullanılan materyaller, kronik steril enflamasyona neden olmuş,
- 16) Ortodontik sabit mekanik kullanan hastalarda, NLRC4 inflamazom yolağı gen ekspresyon düzeylerinin etkilendiği saptanmış,
- 17) Steril enflamasyon mekanizmasında ortodontik materyallerin oluşturduğu moleküler düzeydeki hasarlanmalara farklı bir bakış açısı getirerek bu hasarlanmanın farklı yolağını ortaya koymaya çalıştık.
- 18) Elde ettiğimiz sonuçlar dişlerine ortodontik materyal takılan bireylerde inflamazom değişikliklerinin olabileceği ve bu mekanizma ile ilişkili yapılacak gen çalışmaları için yeni bir kaynak oluşturabilecek niteliktedir.
- 19) Görüşümüz, çalışmamızın inflamazom yolaklarının vücutta yaptığı değişikliklerin oluşmasına engel olabilecek yeni araştırmalara ve toplumdaki sıklıklarını azaltacak muhtemel bireysel hedef tedavilerine ışık tutabileceği yönündedir.

Sonuç olarak bu çalışmada,

- 1) NLRC4 geninde Türk popülasyonuna özgü nükleotid yer değişimleri-polimorfizmler gösterildi. Bir kişide bu gene özgü **yeni mutasyon** saptandı.
- 2) **Ortodontik tedavi amacıyla ağız içinde kullanılan materyal, steril kronik enflamasyona neden olmaktadır. Ortodontik malzemeden çıkan materyal, DAMP'tır. Bu DAMP, NLRC4 inflamazom yolağını aktive ederek gen ekspresyonunu artırmaktadır.**
- 3) DNA'nın yapısındaki değişim, RNA'nın ekspresyon düzeyine yansımaktadır. Ortodontik materyalin terkipteki bileşenler DAMP olabilmektedir. Bu DAMP, bu çalışmada NLRC4 inflamazom yolağını aktive etmektedir. Bu aktivasyon, ağızda lokal otoenflamasyonla son bulmaktadır.
- 4) **Sonuç olarak,** ileride bu materyalin yaptığı hasarları yani steril enflamasyon-otoenflamasyonu inhibe edici farmakolojik ajanların kullanımını gündeme getirecektir. Yani anti inflamazom moleküllerinin, lokal ya da sistemik tedavide kullanımını gündeme gelecektir.

ÖNERİLER

- 1) Alerji geçmişi olan hastalarda malzeme seçiminde daha dikkatli davranılmalı ve gerekli alerji testleri yapılmalıdır.
- 2) Alerjik reaksiyona karşı çalışanlar bilinçlendirilmeli, eğitilmeli ve acil müdahale ekipmanı bulundurulmalıdır.
- 3) Ortodontik tedavide kullanılan materyallerin ağız ortamına uygun ve mekanik performansını kaybetmeyecek malzemelerden üretilmesi ve seçilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, bu malzemeler korozyona uğramayan ya da dirençli malzemelerden oluşmalı ve biyo uyumluluğu yüksek olup karsinogen ve/veya alerjen olmayan ürünlerden seçilmelidir.
- 4) Ortodontik materyallerin, ağız içi asidik ortamda DAMP oranını arttıracığını ve böylece NLRC4 inflamazomunun aktivasyonu pozitif yönde etkileyeceğini ve dolayısıyla steril kronik enflamasyonun oranını da arttıracığından dolayı hekimler, hastalardan asidik içeceklerden uzak durmalarını çok şiddetli bir şekilde istemelidir.
- 5) İnflamazom aktivasyonuna neden olan tehlike moleküllerinin (DAMP) azaltılması hedeflenmelidir.
- 6) Bu araştırma, NLRC4 ve enflamasyon arasındaki etkileşimi anlamak için daha geniş çalışma modelleri ve ek çalışmalar ile genişletilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1) Küçükyıldırım BO. Ortodontik Tellerin Farklı Ortamlardaki Korozyon Davranışlarının İncelenmesi, FBE Makine Mühendisliği Anabilim Dalı İmal Usulleri Programı, Yüksek Lisans Tezi (Danışman: Akdoğan A), 2006, İstanbul.
- 2) Harris JE, Kowalski CJ, Watnick SS. Genetic Factors in the Shape of the Craniofacial Complex. *Angle Orthod* Jan 1973; 43 (1): 107–111.
- 3) Brodie AG. On the growth pattern of the human head. *Am J Anat* 1941; 68: 209-221.
- 4) Mossey PA, The Heritability of Malocclusion: Part 2. The Influence of Genetics in Malocclusion. *British Journal of Orthodontics*, Vol. 26, 1999, 195–203.
- 5) Hartsfield JK, Morford LA, Otero LM. Genetic Factors Affecting Facial Growth. *Orthodontics - Basic Aspects and Clinical Considerations* 2012
- 6) Palazon-Riquelme P, Lopez-Castejon G. The inflammasomes, Immune guardians at defence barriers. *Immunology* 2018; 155, 320–330
- 7) Vanaja SK, Rathinam VAK, Fitzgerald KA. Mechanisms of inflammasome activation: Recent advances and novel insights. *Trends in Cell. Biol.* 2015; 25: 308–15
- 8) Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat. Rev. Immunol.* 2016; 16: 407–20
- 9) Tate MD, Pickett DL, van Rooijen N, et al. Critical role of airway macrophages in modulating disease severity during influenza virus infection of mice. *J Virol* 2010; 84: 7569–80
- 10) Lund JM, Alexopoulou L, Sato A, et al. Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:5598–603
- 11) Guo H, Callaway JB, Ting JPY. Inflammasomes: Mechanism of action, role in disease, and therapeutics *J Nat Med* 2015; 21 (7): 677–687.
- 12) Barrett RD, Bishara SE, Quinn JK. Biodegradation of orthodontic appliances. Part I. Biodegradation of nickel and chromium in vitro. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* Jan 1993;103(1):8-14.
- 13) Baran İ, Nalçacı R. Dişhekimiğinde kullanılan materyaller ve alerjik reaksiyonlar. *Atatürk Üniv. DişHek. Fak. Derg. Suppl.*: 2, 2007: 26-32.
- 14) Granchi D, Cenni E, Giunti A, et al. Metal hypersensitivity testing in patients undergoing joint replacement. *J Bone Joint Surg Br* 2012; 94-B:1126–34
- 15) Valentine-Thon E. Schiwara HW. Validity of MEELISA for metal sensitivity testing, *Neuroendocrinol Lett.*, Nos.1/2 Feb-Apr, 2003: 24; 57-64.

- 16) Khare A, Kellermann M, Kellermann G. MELISA® In-Vitro Methodology for the Detection of Metal Hypersensitivity in an American Population. Poster Presentation at the American Association of Clinical Chemists (AACC); July 28, 2010: Anaheim, CA.
- 17) Laitinen M, Nieminen J, Reito A, et. al. High blood metal ion levels in 19 of 22 patients with metal-on-metal hinge knee replacements. *Acta Orthopeda*, 2017; 88(3):269-274
- 18) Faccioni F, Franceschetti P, Cerpelloni M, et al. In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucosa cells. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;124 (6):687-93.
- 19) Ağaoğlu G, Arun T, İzgü B, et al. Nickel and chromium levels in the saliva and serum of patients with fixed orthodontic appliances. *Angle Orthod* 2001; 71(5): 375-9
- 20) Amini F, Borzabadi Farahani A, Jafari A, et al. In vivo study of metal content of oral mucosa cells in patients with and without fixed orthodontic appliances. *Orthod Craniofac Res* 2008; 11: 51-6
- 21) Ülgen, M. Ortodonti Tedavi Prensipleri, Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları, Yayın no:2, 8. Baskı, Diyarbakır-2015.
- 22) Ronald HR. Treatment Mechanics for the straight wire appliance. *Orthodontics Current Principles and Techniques*, St Louis: Mosby-Year Book, 1985; 665-717
Ref: Önçağ G, Yetkiner E, Mutlu EN. Türkiye’deki ortodonti uzmanlarının sabit aparey kullanımı: Anket çalışması. *EÜ Dişhek Fak Derg* 2011; 32: 83-89
- 23) McNamara C, Drage KJ, Sandy JR, et al. An evaluation of clinicians' choices when selecting archwires. *Eur J Orthod* 1; 2010: 54-9.
Ref: Önçağ G, Yetkiner E, Mutlu EN. Türkiye’deki ortodonti uzmanlarının sabit aparey kullanımı: Anket çalışması. *EÜ Dişhek Fak Derg* 2011; 32: 83-89
- 24) Burstone CJ, Goldberg JA. Beta titanium: A new orthodontic alloy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1980;77: 121-32.
- 25) Doğan M, Ulusoy Ç. Ortodontide Biyouyumluluk, *Acta Odontol Turc* 2013; 30 (2): 110-4
- 26) Kusy RP, Greenberg AR. Effects of composition and cross section on the elastic properties of orthodontic wires. *Angle Orthod* 1981; 51: 325-341
- 27) Kusy RP, Whitley JQ. Effects of surface roughness on the coefficients of friction in model orthodontic systems. *J Biomech* 1990; 23: 913-925.
- 28) Yüzbaş B. 5 Farklı Ortodontik Braket Tipinin Paslanmaz Çelik Ve Beta Titanyum Ark Teli Materyalleriyle Ortaya Çıkardıkları Sürtünme Kuvvetlerinin İncelenmesi, Doktora tezi, danışman: Arun T, Yeditepe Üniv., İstanbul 2017.
- 29) Tosun Y. Sabit Ortodontik Apareylerin Biyomekanik Prensipleri, Ege Üniversitesi Basımevi, Bitirme Tezi, İzmir, 1999.

- 30) Kapila S, Sachdeva R. Mechanical properties and clinical application of orthodontic wires. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1989; 96: 100-109.
- 31) Kusy RP. A review of contemporary archwires: Their properties and characteristics. *The Angle Orthodontist* 1997; 67(3):197-207.
- 32) Tidy DC. Frictional forces in fixed appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1989; 96: 249-254.
- 33) Cacciafesta V, Sfondrini MF, Scribante A, et al. Evaluation of friction of conventional and metal-insert ceramic brackets in various bracket-archwire combinations. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003; 124:403-409.
- 34) Saunders CR, Kusy RP. Surface topography and frictional characteristics of ceramic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1994; 106: 76-87.
- 35) Nishio C, da Motta AF, Elias CN, et al. In vitro evaluation of frictional forces between archwires and ceramic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2004; 125: 56-64.
- 36) Loftus BP, Artun J, Nicholls JJ, et al. Evaluation of friction during sliding tooth movement in various bracket-arch wire combinations. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999; 116:336-345.
- 37) Bazakidou E, Nanda RS, Duncanson Jr MG, et al. Evaluation of frictional resistance in esthetic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997; 112:138-144.
- 38) Downing A, McCabe J, Gordon P. A study of frictional forces between orthodontic brackets and archwires. *Br J Orthod* 1994; 21: 349-357.
- 39) Krishnan V, Kumar KJ. Mechanical properties and surface characteristics of three archwire alloys. *Angle Orthod* 2004; 74: 825-831.
- 40) Andreasen GF, Hileman TB. An evaluation of cobalt substituted wire for orthodontics. *J Am Dent Assoc* 1971; 82: 1373-1375.
- 41) Aygahoğlu A. Şekil bellekli alaşımlar, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 1999 (1): 179-192.
- 42) Andreasen GF, Brady PR. A use hypothesis for 55 Nitinol wire for orthodontics. *The Angle Orthodontist*. 1972; 42(2):172-7.
- 43) Bishara S. Textbook of orthodontics. W.B. Saunders company, 2001.
- 44) Kapur R, Sinha PK, Nanda RS. Comparison Of Frictional In Titanium And Stainless Steel Brackets. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1999; 116 (3): 271-274.
- 45) McLaughlin RP, et al. A Clinical Review Of The MBT Orthodontic Treatment Program. *Orthodontic Perspectives*, 4(2): 4-15, Fall, 1997.
- 46) The MBT System In Practice, *Orthodontic Perspectives*, A 3M Unitek Publication, Vol. X No.1:3-25, Fall, 1997

- 47) <https://www.americanortho.com/products/wire/wire-stainless-steel/> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 48) Tuncer S, Demirci M. Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirmeleri. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg. 2011; 21: 141-9.
- 49) Kerosuo H, Moe G, Kleven E. In vitro release of nickel and chromium from different types of simulated orthodontic appliances. Angle Orthod 1995; 65(2): 111-6.
- 50) von Fraunhofer JA. Corrosion of orthodontic devices. Seminars in orthodontics. 1997;3 (3): 198-205.
- 51) <https://istanbulalerjimerkezi.com.tr/metal-alerjisi-nedir/> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 52) Husmann P, Bourauel C, Wessinger M, et al. The frictional behavior of coated guiding archwires. J Orofac Orthop/Fortschr Kieferorthop 2002;63(3):199-211.
- 53) Elayyan F, Silikas N, Bearn D. Ex vivo surface and mechanical properties of coated orthodontic archwires. European Journal Of Orthodontics 2008; 30 (6): 661-7.
- 54) Krishnan M, Seema S, Kumar AV, et al. Corrosion resistance of surface modified nickel titanium archwires. The Angle orthodontist. 2014; 84 (2): 358-67.
- 55) Sunderman FW Jr. Biological monitoring of nickel in humans. Scand J Work Environ Health 1993; 19: 34-8.
- 56) Barceloux DG. Nickel. J Toxicol Clin Toxicol 1999; 37: 239-58.
- 57) Kerosuo H, Kullaa A, Kerosuo E, et al. Nickel allergy in adolescents in relation to orthodontic treatment and piercing of ears. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1996; 109:148-54.
- 58) Greig DG. Contact dermatitis reaction to a metal buckle on a cervical headgear. Br Dent J 1983; 155: 61-2. (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 59) Grimaudo NJ. Biocompatibility of nickel and cobalt dental alloys. Gen Dent 2001; 49: 498-503; quiz 504-5.
- 60) <https://kayhanturan.com/blog-detail/diz-protezlerinde-goz-ardi-edilmemesi-gereken-sorun-metal-alerjisi-ve-cozumu/35> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 61) Çömlekoğlu E, Dündar M, Güngör M, et al. Allergy in dentistry: General terms and testing materials. EÜ Diş Hek Fak Derg 2008;29: 67-79.
- 62) Müller K, Valentine-Thon E. Hypersensitivity to titanium: clinical and laboratory evidence. Neuro Endocrinol Lett 2006; 27: 31-5.
- 63) Aalto-Korte K, Alanko K, Kuuliala O, et al. Methacrylate and acrylate allergy in dental personnel. Contact Dermatitis 2007;57: 324- 30.
- 64) Spalj S, Zrinski MM, Spalj VT. In-vitro assesment of oxidative stress generated by orthodontic archwires. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2012; 141:583-9

- 65) Karakaş CS, Esenlik E. Ortodontide kullanılan malzemelerin sitotoksitesinin değerlendirilmesi. Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg 2015; 123-131
- 66) Trombelli L, Virgili A, Corazza M, et al. Systemic contact dermatitis from an orthodontic appliance. Contact Dermatitis 1992; 27: 259-60
- 67) de Souza RM, de Menezes LM. Nickel, Chromium and Iron Levels in the Saliva of Patients with Simulated Fixed Orthodontic Appliances. *Angle Orthod* 2008; 78 (2): 345-350
- 68) Kocadereli L, Ataç PA, Kale PS, et al. Salivary nickel and chromium in patients with fixed orthodontic appliances. *Angle Orthod* 2000; 70: 431-4.
- 69) Toms AP. The corrosion of orthodontic wire. *Eur J Orthod* 1988; 10(2):87-97.
- 70) Pazzini CA, Júnior GO, Marques LS, et al. Prevalence of nickel allergy and longitudinal evaluation of periodontal abnormalities in orthodontic allergic patients. *Angle Orthod* 2009; 79: 922-7.
- 71) Ceyhan T, Köse N. Ortopedide biyomalzeme kullanımı: Genel bilgiler ve tanımlar. *TOTBİD Dergisi* 2011; 10(2):79-82.
- 72) Kobayashi S, Ohgoe Y, Ozeki K, et al. Dissolution effect and cytotoxicity of diamond-like carbon coatings on orthodontic archwires. *J Mater Sci Mater Med* 2007; 18: 2263-8.
- 73) Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins Temel Patoloji (Çev. Ed: Tuzlalı S, Güllüoğlu M, Çevikbaş U), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2013. s. 29-73.
- 74) Calin A. Pain and inflammation. *Am J Med* 1984; 77(3A):9-16.
- 75) Higgins AJ. The biology pathophysiology and control of eicosanoids in inflammation. *J Vet Pharmacol Ther* 1985;8(1):1-18.
- 76) Geertruida J van Woudenberg, Desponia Theofylaktopoulou, Anneleen Kujisten, et al. Adapted dietary inflammation and markers of glucose metabolism: the Cohort study on Diabetes and Atherosclerosis Maastricht (CODAM) and the Hoorn study 1-4. *Am J Clin Nutr* 2013; 98: 1533-42
- 77) <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/chronic-inflammation> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 78) http://turkimmunoloji.org/?page_id=83&lang=tr_TR (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 79) <https://www.medikalakademi.com.tr/inflamasyon-nedir-neden-olur-belirtileri-ve-tedavisi/> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 80) Kasap H, Kasap M, Demirhan O, ve ark. Tıbbi Biyoloji ve Genetik, ISBN: 978-605-397-059-0, ISO 9001:2000, 2009.
- 81) Klug Ws, Cummings Mr, Spencer Ca (2011). Genetik Kavramlar. 8. Baskı. Ed: Öner C, Sümer S, Öner R, Ögüş A, Açıık L. Palme Yayıncılık.

Ref.: Kızıltekin R: Sendromsuz Dudak Damak Yarıklı Hastalarda Msx1 Gen Polimorfizminin Yarık Bölgesindeki Etkinliğinin İncelenmesi, İzmir Katip

Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ortodonti A.D., Doktora tezi
(Danışman: Karadede Mİ, Ünal Karadede B), 12.09.2019.

- 82) <http://mrtbiologysmhs.weebly.com/home/dna-model-gene-of-histone-h31> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 83) <https://webders.net/677/dna-yapisi-ve-ozellikleri.html> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 84) Avery OT, Macleod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: induction of transformation by adenoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. J Exp Med 1944; 79, 137–158.
- 85) Chargaff E, Lipshitz R, Green C, et al. The composition of the deoxyribonucleic acid of salmon sperm. J Biol Chem 1951; 192, 223–230.
- 86) deChadarevian S, Kamminga H (2002) Representations of the Double Helix. Whipple Museum of the History of Science, Cambridge, UK.
- 87) <https://rapign.blogspot.com/2017/10/rna-targeting-with-crispr-cas13.html> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 88) Orphanides G, Reinberg D. A Unified Theory of Gene Expression. Cell 2002; 108, 439–451.
- 89) <https://studylibr.com/doc/1080107/gen-ekspresyonunun-kontrolu-ve-duzenlenmesi> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 90) Thompson Mw, McInnes Rr, Willard Hf (1991). Thompson & Thompson: Genetics in Medicine. 5th Ed., Philadelphia: Saunders Company.
- 91) Sharma D, Kanneganti TD. The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation. The Journal of Cell Biology. 2016; 213(6): 617.
- 92) Hoffman Hal M., Brydges Susannah D., Genetic and Molecular Basis of Inflammasome-mediated Disease, The Journal Of Biological Chemistry Vol. 286, No. 13, pp. 10889 –10896, April 1, 2011.
- 93) He WT, Wan H, Hu L, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion. Cell Research 2015;25(12):1285-98.
- 94) Corridoni D, Arseneau KO, Cifone MG, et al. The Dual Role Of Nod-Like Receptors In Mucosal Innate Immunity And Chronic Intestinal Inflammation, Frontiers in Immunology • Vol. 5, July 2014, pg. 1-10.
- 95) Hanson PI, Whiteheart SW. AAA + proteinler: motor var, çalışacak. Nat Rev Mol Cell Biol 2005; 6: 519–529.
- 96) Tanabe T, Chamaillard M, Ogura Y, et al. Regulatory regions and critical residues of NOD2 involved in muramyl dipeptide recognition. EMBO J. 2004; 23: 1587–1597.
- 97) Ye Z, Lich JD, Moore CB, et al. ATP binding by monarch-1/NLRP12 is critical for its inhibitory function. Mol Cell Biol 2008; 28: 1841–1850

- 98) Duncan JA, et al. Cryopyrin/NALP3 binds ATP/dATP, is an ATPase, and requires ATP binding to mediate inflammatory signaling. *Proc Natl Acad Sci ABD* 2007; 104: 8041–8046.
- 99) Mariathasan S, Newton K, Monack DM, et al. Differential activation of the inflammasome by caspase-1 adaptors ASC and Ipaf. *Nature*. 2004;430(6996):213-8.
- 100) <https://www.inflammasomelab.com/content/blog/salmonella-pathogenicity-island%E2%80%92subverts-human-nlrp3-and-nlrc4-inflammasome-responses> (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 101) Duncan JA, Canna SW. The NLRC4 Inflammasome. *Immunological Reviews* 2018;281(1):115-23.
- 102) Mann SM, Kanneganti TD: Regulation of Inflammasome Activation, *Immunological Reviews* 2015 Vol. 265: 6–21.
- 103) Kigerl KA, de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, et al. Pattern recognition receptors and central nervous system repair. *Experimental Neurology* 2014; 2585-16.
- 104) Amin J, Boche D, Rakic S. What do we know about the inflammasome in humans? *Brain Pathology* 2017; 27(2): 192-204.
- 105) Kim YK, Shin JS, Nahm MH. NOD-Like Receptors in Infection, Immunity, and Diseases. *Yonsei Medical Journal* 2016; 57(1): 5-14.
- 106) Di Virgilio F. The therapeutic potential of modifying inflammasomes and NOD-like receptors. *Pharmacological Reviews* 2013; 65(3): 872-905.
- 107) Szabo G, Csak T. Inflammasomes in liver diseases. *Journal of Hepatology* 2012; 57(3): 642-54.
- 108) Luan J, Ju D. Inflammasome: A Double-Edged Sword in Liver Diseases. *Frontiers in Immunology* 2018; 92201.
- 109) Xiao J, Tipoe GL: Inflammasomes in non-alcoholic fatty liver disease. *Frontiers in Bioscience* 2016; 21683- 95
- 110) Ratsimandresy RA, Dorfleutner A, Stehlik C. An Update on PYRIN Domain-Containing Pattern Recognition Receptors: From Immunity to Pathology. *Frontiers in Immunology* 2013, 4440.
- 111) Lu C, Wang A, Wang L, et al. Nucleotide binding to CARD12 and its role in CARD12-mediated caspase-1 activation. *Biochem Biophys Research Communications* 2005; 331: 1114–9.
- 112) Sundaram B, Kanneganti TD: Advances in Understanding Activation and Function of the NLRC4 Inflammasome, *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22(3), 1048.
- 113) Hu Z, Yan C, Liu P, et al. Crystal Structure of NLRC4 Reveals Its Autoinhibition Mechanism. *Science* 2013; 341: 172–5.

- 114) Wang X, Shaw DK, Hammond HL, et al. The Prostaglandin E₂-EP3 Receptor Axis Regulates *Anaplasma phagocytophilum*- Mediated NLRC4 Inflammasome Activation. *PLoS Pathogens* 2016;12: e1005803.
- 115) Zhang L, Chen S, Ruan J, et al. Cryo-EM structure of the activated NAIP2-NLRC4 inflammasome reveals nucleated polymerization. *Science*; 2015;350: 404–9.
- 116) Diebold CA, Halff EF, Koster AJ, et al. Cryoelectron Tomography of the NAIP5/NLRC4 Inflammasome: Implications for NLR Activation, Structure; 2015; 23: 2349–57.
- 117) Hu Z, Zhou Q, Zhang C, et al. Structural and biochemical basis for induced self-propagation of NLRC4. *Science*; 2015; 350: 399-404.
- 118) Gu Y, Kuida K, Tsutsui H, et al. Activation of Interferon- γ Inducing Factor Mediated by Interleukin-1 β Converting Enzyme. *Science* 1997; 275: 206–9.
- 119) Ghayur T, Banerjee S, Hugunin M, et al. Caspase-1 processes IFN- γ -inducing factor and regulates LPS-induced IFN- γ production. *Nature* 1997; 386: 619–23.
- 120) Poyet JL, Srinivasula SM, Tnani M, et al. Identification of Ipaf, a human caspase-1-activating protein related to Apaf-1. *J Biol Chem* 2001; 276: 28309–13.
- 121) Damiano JS, Stehlik C, Pio F, et al. CLAN, a novel human CED-4-like gene. *Genomics* 2001; 75: 77–83.
- 122) Im SS, Yousef L, Blaschitz C, et al. Linking Lipid Metabolism to the Innate Immune Response in Macrophages through Sterol Regulatory Element Binding Protein-1a. *Cell Metab.* 2011; 13: 540–9.
- 123) Sborgi L, Ruhl S, Mulvihill E, et al. GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death. *EMBO J* 2016; 35: 1766–78.
- 124) Jorgensen I, Zhang Y, Krantz BA, et al. Pyroptosis triggers pore-induced intracellular traps (PITs) that capture bacteria and lead to their clearance by efferocytosis. *J Exp Med.* 2016; 213: 2113–28.
- 125) von Moltke J, Trinidad NJ, Moayeri M, et al. Rapid induction of inflammatory lipid mediators by the inflammasome in vivo. *Nature* 2012; 490: 107–11.
- 126) Lamkanfi M, Kanneganti TD, Van Damme P, et al. Targeted Peptidomic Proteomics Reveals Caspase-7 as a Substrate of the Caspase-1 Inflammasomes. *Molecular & Cellular Proteomics* 2008; (7)2350 –2363.
- 127) Masumoto J, Taniguchi S, Ayukawa K, et al. ASC, a Novel 22-kDa Protein, Aggregates during Apoptosis of Human Promyelocytic Leukemia HL-60 Cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 33835–8.
- 128) Lu A, Magupalli VG, Ruan J, et al. Unified Polymerization Mechanism for the Assembly of ASC-dependent Inflammasomes. *Cell* 2014; 156: 1193–206.

- 129) Man SM, Hopkins LJ, Nugent E, et al. Inflammasome activation causes dual recruitment of NLRC4 and NLRP3 to the same macromolecular complex. *Proc Natl Acad Sci ABD A*. 2014; 111: 7403–8.
- 130) Man SM, Tourlomousis P, Hopkins L, et al. Salmonella infection induces recruitment of Caspase-8 to the inflammasome to modulate IL-1 β production. *J Immunol* 2013; 191: 5239–46.
- 131) Mascarenhas DPA, Cerqueira DM, Pereira MSF, et al. Inhibition of caspase-1 or gasdermin-D enable caspase-8 activation in the Naip5 / NLRC4 / ASC inflammasome. *PLoS Pathog* 2017; 13(8): e1006502.
- 132) Franchi L, Kamada N, Nakamura Y, et al. NLRC4-driven production of IL-1 β discriminates between pathogenic and commensal bacteria and promotes host intestinal defense. *Nat Immunol*. 2012; 13: 449–56.
- 133) Yang J, Zhao Y, Shi J, et al. Human NAIP and mouse NAIP1 recognize bacterial type III secretion needle protein for inflammasome activation. *Proc Natl Acad Sci ABD A* 2013; 110: 14408–13.
- 134) Yang J, Zhang E, Liu F, et al. Flagellins of Salmonella Typhi and Nonpathogenic Escherichia coli Are Differentially Recognized through the NLRC4 Pathway in Macrophages. *J Innate Immun* 2014; 6: 47–57.
- 135) Carvalho FA, Nalbantoglu I, Aitken JD, et al. Cytosolic flagellin receptor NLRC4 protects mice against mucosal and systemic challenges. Mucosal Immunology. 2012; 5: 288–98.
- 136) Muller AA, Dolowschiak T, Sellin ME, et al. An NK Cell Perforin Response Elicited via IL-18 Controls Mucosal Inflammation Kinetics during Salmonella Gut Infection. *PLoS Pathogens* 2016; 12: e1005723.
- 137) Nordlander S, Pott J, Maloy KJ. NLRC4 expression in intestinal epithelial cells mediates protection against an enteric pathogen. *Mucosal Immunology* 2014; 7: 775–85.
- 138) Sellin ME, Muller AA, Felmy B, et al. Epithelium-Intrinsic NAIP / NLRC4 Inflammasome Drives Infected Enterocyte Expulsion to Restrict Salmonella Replication in the Intestinal Mucosa. *Cell Host & Microbe* 2014; 16: 237–48.
- 139) Rauch I, Deets KA, Ji DX, et al. NAIP-NLRC4 Inflammasomes Coordinate Intestinal Epithelial Cell Expulsion with Eicosanoid and IL-18 Release via Activation of Caspase-1 and -8. *Immunity* 2017; 46: 649–59.
- 140) Wu J, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES. Involvement of the AIM2, NLRC4, and NLRP3 Inflammasomes in Caspase-1 Activation by Listeria monocytogenes. *J Clin Immunol* 2010; 30: 693–702.
- 141) Sutterwala FS, Mijares LA, Li L, et al. Immune recognition of *Pseudomonas aeruginosa* mediated by the IPAF / NLRC4 inflammasome. *J Exp Med* 2007; 204: 3235–45.

- 142) Cai S, Batra S, Wakamatsu N, et al. NLRC4 Inflammasome-Mediated Production of IL-1 β Modulates Mucosal Immunity in the Lung against Gram-Negative Bacterial Infection. *J Immunol* 2012; 188: 5623–35.
- 143) Ceballos-Olvera I, Sahoo M, Miller MA, et al. Inflammasome-dependent pyroptosis and IL-18 protect against *Burkholderia pseudomallei* lung infection while IL-1 β is deleterious. *PLoS Pathogens* 2011; 7: e1002452.
- 144) Pedra JH, Sutterwala FS, Sukumaran B, et al. ASC/PYCARD and caspase-1 regulate the IL-18/IFN- γ axis during *Anaplasma phagocytophilum* infection. *J Immunol* 2007; 179: 4783–91.
- 145) Maltez VI, Tubbs AL, Cook KD, et al. Inflammasomes Coordinate Pyroptosis and Natural Killer Cell Cytotoxicity to Clear Infection by a Ubiquitous Environmental Bacterium. *Immunity* 2015; 43: 987–97.
- 146) Liu Z, Zaki MH, Vogel P, et al. Role of Inflammasomes in Host Defense against *Citrobacter rodentium* Infection. *J Biol Chem* 2012; 287: 16955–64.
- 147) Canna SW, de Jesus AA, Gouni S, et al. An activating NLRC4 inflammasome mutation causes autoinflammation with recurrent macrophage activation syndrome. *Nat Genet* 2014; 46: 1140–6.
- 148) Karmakar M, Sun Y, Hise AG, et al. Cutting Edge: IL-1 β Processing during *Pseudomonas aeruginosa* Infection Is Mediated by Neutrophil Serine Proteases and Is Independent of NLRC4 and Caspase-1. *J Immunol* 2012; 189: 4231–5.
- 149) Chen KW, Gross CJ, Sotomayor FV, et al. The neutrophil NLRC4 inflammasome selectively promotes IL-1 β maturation without pyroptosis during acute *Salmonella* challenge. *Cell Reports* 2014; 8: 570–82.
- 150) Kortmann J, Brubaker SW, Monack DM. Cutting Edge: Inflammasome Activation in Primary Human Macrophages Is Dependent on Flagellin. *J Immunol* 2015; 195: 815–9.
- 151) de Jesus AA, Canna SW, Liu Y, et al. Molecular mechanisms in genetically defined autoinflammatory diseases: disorders of amplified danger signaling. *Annu Rev Immunol* 2015; 33: 823–74.
- 152) Romberg N, Al Moussawi K, Nelson-Williams C, et al. Mutation of NLRC4 causes a syndrome of enterocolitis and autoinflammation. *Nat Genet* 2014; 46: 1135–9.
- 153) Dokumacı LK, Behrens EM. Hyperinflammation, rather than hemophagocytosis, is the common link between macrophage activation syndrome and hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Curr Opin Rheumatol* 2014; 26: 562–9.
- 154) Liang J, Alfano DN, Squires JE, et al. Novel NLRC4 Mutation Causes a Syndrome of Perinatal Autoinflammation With Hemophagocytic Lymphohistiocytosis, Hepatosplenomegaly, Fetal Thrombotic Vasculopathy, and Congenital Anemia and Ascites. *Pediatric and Developmental Pathology* 2017; 20 (6), 498-505.

- 155) Rigante D, Emmi G, Fastiggi M, et al. Macrophage activation syndrome in the course of monogenic autoinflammatory disorders. *Clin Rheumatol* 2015; 34: 1333–9.
- 156) Shimizu M, Nakagishi Y, Inoue N, et al. Interleukin-18 for predicting the development of macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *Clin Immunol* 2015; 160: 277–81.
- 157) Girard C, Rech J, Brown M, et al. Elevated serum levels of free interleukin-18 in adult-onset Still's disease. *Rheumatology* 2016; 55: 2237–47.
- 158) Johansson A, Eriksson N, Becker RC, et al. NLRC4 Inflammasome Is an Important Regulator of Interleukin-18 Levels in Patients With Acute Coronary Syndromes: Genome-Wide Association Study in the PLATelet inhibition and patient Outcomes Trial (PLATO). *Circ Cardiovasc Genet* 2015; 8(3):498-506.
- 159) Canna SW, Girard C, Malle L, et al. Life-threatening NLRC4-associated hyperinflammation successfully treated with IL-18 inhibition. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139(5):1698-1701.
- 160) Bracaglia C, Prencipe G, Gatto A, et al. Anti Interferon-Gamma (IFN γ) Monoclonal Antibody Treatment in a Child with NLRC4-Related Disease and Severe Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH). *Pediatric Blood and Cancer* 2015; 62: S123 – S.
- 161) Volker-Touw CM, de Koning HD, Giltay J, et al. Erythematous nodes, urticarial rash and arthralgias in a large pedigree with NLRC4-related autoinflammatory disease, expansion of the phenotype. *Br J Dermatol* 2017; 176(1):244-248.
- 162) Kitamura A, Sasaki Y, Abe T, et al. NLRC4'teki kalıtsal bir mutasyon, insan ve farelerde otoinflamasyona neden olur. *J Exp Med.* 2014; 211: 2385–96.
- 163) Kawasaki Y, Oda H, Ito J, et al. Identification of a High-Frequency Somatic NLRC4 Mutation as a Cause of Autoinflammation by Pluripotent Cell-Based Phenotype Dissection. *Arthritis&Rheumatology* 2017; 69: 447–59.
- 164) Raghawan AK, Sripada A, Gopinath G, et al. A Disease-associated Mutant of NLRC4 Shows Enhanced Interaction with SUG1 Leading to Constitutive FADD-dependent Caspase-8 Activation and Cell DeathH443P Mutant of NLRC4 Induces Caspase-8-mediated Apoptosis. *J Biol Chem* 2017; 292: 1218–30.
- 165) Harrapas et al. *Current Rheumatology Reports* (2018) 20: 40.
- 166) Akkaya I. Characterization Of The Regulatory Mechanisms Of Nod Like Receptors In The Generation Of Immune Responses: Revisiting NLRC4 In Eosinophilic Functions In Vitro, İstanbul Teknik Üniv. Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Programı, Yüksek lisans tezi, Danışman: Çıracı C., Haziran 2019.
- 167) Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions, *Br Dent J* 1992; 72, 305-312.

- 168) Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 2001; 85, 162-169.
- 169) Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. *J Dent Res* 1987; 66: 648-653.
- 170) Newburn E. *Cariology*. 3rd edn. Chicago: Quintessence, 1989: 29-61.
- 171) Kuvvetli S, Sandallı N. Sabit Ortodontik Tedavi Gören Hastalarda Ağız Hijyeninin Sağlanması ve Diş Çürüklerinin Önlenmesi, *EÜ Dişhek Fak Derg* 2006; 27: 135-144.
- 172) Kaya S. Tükürük bezi hastalıkları, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 1997.
- 173) Diaz-Arnold AM, Marek CA. The impact of saliva on patient care: A literature review, *J Prosthet Dent* 2002; 88, 337-343.
- 174) Pedersen AM, Bardow A, Jensen BS, et al. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Dis* 2002; 8, 117-129.
- 175) Amerongen NAV, Veerman FC. Saliva the defender of the oral cavity. *Oral Dis* 2002; 8, 12-22.
- 176) Mandel ID. The function of saliva. *J Dent Res* 1987; 66, 623-627.
- 177) Tabak LA. Structure and function of human salivary mucins. *Critical Reviews in Oral Biology&Medicine* 1990; 1, 229-234.
- 178) Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: Consequences for oral health care. *Caries Res* 2004; 38: 182-191.
- 179) ten Cate JM. Fluorides in caries prevention and control: empiricism or science. *Caries Res* 2004; 38: 254-257.
- 180) Policy on use of a Caries-risk Assessment Tool (CAT) for Infants, Children and Adolescents. American Academy of Pediatric Dentistry Oral Health Policies, 2006.
- 181) Cowman RA, Schaefer SJ, Fitzgerald RJ, et al. Specificity of utilization of human salivary proteins for growth by oral streptococci. *Caries Research* 1979; 13, 181-189
- 182) Pollock JJ, Lotardo S, Gavai R, et al. Lysozyme-protease-inorganic monovalent anion lysis of oral bacterial strains in buffers and stimulated whole saliva, *Journal of Dental Research* 1987; 66, 467-474
- 183) de Almeida PDV, Grégio AMT, Machado MAN, et al. Saliva Composition and Functions: A Comprehensive Review. *J Contemporary Dental Practice* 2008; (9) 3: 072-080.
- 184) Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva a review. *Critical Reviews in Oral Biology&Medicine* 2002;13(2):197- 212.
- 185) Streckfus CF, Bigler LR. Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Dis* 2002; 8, 69-76

- 186) Kızıltekin R. Sendromsuz Dudak Damak Yarıklı Hastalarda Msx1 Gen Polimorfizminin Yarık Bölgesindeki Etkinliğinin İncelenmesi, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ortodonti A.D., Doktora tezi (Danışman: Karadede Mİ, Ünal Karadede B), 12.09.2019.
- 187) Temizkan G, Arda N. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, ISBN:978-975-420-583-1, 2008.
- 188) www.ncbi.nih.gov (erişim tarihi: Kasım 2020)
- 189) Staerkjaer L, Menne T. Nickel allergy and orthodontic treatment. Eur J Orthod 1990; 12: 284-9.
- 190) Zaimoğlu A, Can G, Ersoy E, et al. Dişhekimliğinde Maddeler Bilgisi. A.Ü Diş Hek Fak. Yayınları:17. Ankara 1993: 393-462.
- Ref.: Baran İ, Nalçacı R: Atatürk Üniv. DişHek. Fak. Derg. Suppl.: 2, Yıl: 2007, Sayfa: 26-32.
- 191) Salihlioğlu AC. Structural Aspects of ASC Speck Formation and Its Potential Novel Functions, Master of Science thesis, Supervisor: Özeren N, Molecular Biology and Genetics, Boğaziçi University, 2013.
- 192) Kuhta M, Pavlin D, Slaj M, et al. Type of archwire and level of acidity: effects on the release of metal ions from orthodontic appliances. Angle Orthod 2009; 79: 102-10.219) Von Fraunhofer JA. Corrosion.
- 193) Pilger A, Rüdiger HW. 8-Hydroxy-2'- deoxyguanosine as a marker of oxidative DNA damage related to occupational and environmental exposures. Int Arch Occup Environ Health 2006; 80: 1-15.
- 194) Torreilles J, Guerin M C, Slaoui-Hasnaoui A. Nickel (II) complexes of histidyl-peptides as Fentonreaction catalysts. Free Radical Research Communications 1990; 11: 159-66.
- 195) David A, Lobner D. In vitro cytotoxicity of orthodontic archwires in cortical cell cultures. Eur J Orthod 2004; 26: 421-6.
- 196) Bishara SE, Barret RD, Selim Mİ. Biodegradation of orthodontic appliances Part II. Changes in the blood level of nickel. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1993; 103:115-9.
- 197) Sfondrini MF, Cacciafesta V, Maffia E. Nickel release from new conventional stainless steel, recycled, and nickel-free orthodontic brackets: An in vitro study. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2010; 137:809-15.
- 198) Saini M, Singh Y, Arora P, et al. Implant biomaterials: A comprehensive review. World J Clin Cases 2015; 16: 52-7.
- 199) Senkutvan RS, Jacob S, Charles A, et al. Evaluation of nickel ion release from various orthodontic arch wires: An in vitro study. J Int Soc Prev Community Dent 2014; 4: 12-6.

- 200) Pişkin B, Avsever H, Gündüz K ve ark. Dental materyallerin beklenmedik etkileri. Türk Diş Hek Derg. 2009; 75: 78-84.
- 201) Ozcelik TB, Yilmaz B. Galvanic gold plating for fixed dental prosthesis. Eur J Dent 2013; 7: 373-6.
- 202) Wataha JC, Malcolm CT. Effect of alloy surface composition on release of elements from dental casting alloys. J Oral Rehabil 1996; 23: 583-9.
- 203) Okazaki Y, Gotoh E. Comparison of metal release from various metallic biomaterials in vitro. Biomaterials 2005; 26: 11-21.
- 204) Kao CT, Ding SJ, He H, et al. Cytotoxicity of orthodontic wire corroded in fluoride solution in vitro. Angle Orthod 2007; 77: 349-54.



EKLER

EK-1

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ UNIVERSITY
Non-Interventional Clinical Studies
Institutionel Review Board

To : Mehmet İrfan KARADEDE,MD
From : Doç. Fatih Esat TOPAL, MD
Date : 17.09.2020
IRB # : 987

Study Title: "Prospective Investigation Of NLRC4 Inflammasome Pathway gene expression Levels In Patients Using Orthodontic Fixed Mechanics", At its board meeting 17.09.2020 your submission for the above referenced research study has received review and approval from İzmir Kâtip Celebi Non-Interventional Clinical Studies Institutional Review Board.



DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI ANAMNEZ FORMU

Hastanın Adı Soyadı:

Tarih:

Doğum Tarihi:

Doktor:

1. Çocuğun genel sağlık durumu ☐ İYİ ☐ KÖTÜ
2. Herhangi bir sağlık durumu var mı? ☐ EVET ☐ HAYIR
- Eğer varsa, belirtiniz.....
3. Genel anestezi altında herhangi bir ameliyat geçirdi mi? ☐ EVET ☐ HAYIR
- Eğer geçirdiyse, açıklayın.....
4. Aşıları tam olarak yapıldı mı? ☐ EVET ☐ HAYIR
5. İlaçlar, medikal ürünler(latex),çevresel faktörlerle alerjisi var mı?(toz, vs.)... ☐ EVET ☐ HAYIR
6. Daha önce kullanmış olduğu ilaçlar.....☐ EVET ☐ HAYIR
7. Şuanda devamlı kullandığı ilaçlar.....
8. Aşağıdaki tabloda tespit edilmiş olan herhangi bir sistemik hastalığı mevcut mu? Varsa işaretleyin.

HASTALIK	EVET	HAYIR	HASTALIK	EVET	HAYIR
Doğumsal Problem			Serebral Palsy		
Kalp Üfürümü			Epilepsi		
Kalp Hastalığı			Astım		
Romatizmal Ateş			Dudak Damak Yanığı		
Anemi			Konuşma/Duyuma Problemi		
Kanama Problemi			Göz problemleri		
Kan transfüzyonu			Cilt Problemleri		
Hepatit/Sarılık			Tonsillit-Adenoid/Sinus Problemi		
AIDS/HIV			Psikolojik Bozukluklar		
Tüberküloz			a. Uyku Problemi		
Karaciğer Hastalığı			b. Radyasyon Tedavisi		
Böbrek Hastalığı			c. Büyüme Bozuklukları		
Diabet			d. Dikkat Bozuklukları		
Artrit			e. Kanser		

9. Çocuğunda son zamanlarda hızlı bir büyüme atılımı gerçekleşti mi?..... ☐ EVET ☐ HAYIR
- 10.Babanın Boyu..... Kilosu..... Annenin Boyu..... Kilosu.....
- 11.Büyük Kardeşlerinin
(1)Boy..... Kilosu..... (2)Boy..... Kilosu..... (3)Boy..... Kilosu.....
12. Menstrüasyon/Âdet(Bayanlar için) başladı mı?..... Başladıysa ne zaman..... Hamilelik[]
- 13.Doğum kontrol hapi kullanıyor mu?.....
- 14.Öğrenme seviyesi nasıl? ☐ İleri Düzeyde ☐ Orta Düzeyde ☐ Alt Düzeyde

Hastanın Adı-Soyadı:

Dental Anamnez

15. Dişsel olarak temel şikayeti Nedir?.....
16. Daha önceden diş tedavisi oldu mu?..... Eğer tedavi oldu ise tarihi:.....

Doküman No: FR 68 - Yürürlüğe Gir. Tar: 01.01.2014- Revizyon Tarihi: 01.01.2014 - Revizyon No: 00 - Sayfa No: 1/2

ÖNEMLİ BİLGİ

Lütfen, size verilen formu dikkatli bir şekilde okuyunuz, açıklamasını istediğiniz, anlaşılmayan kısımları bize sorup öğreniniz. Gerekli yerleri doldurunuz / işaretleyiniz. Teşhis ve tedavi için tarafımızdan yapılması önerilen işlemlerin yapılması kabul ya da reddettiğiniz gösteren yere (+) işareti koyup imzalayınız. İmzaladığınız kısım doktorunuz sizden alacaktır.

ÖNEMLİ BİLGİ

Tedavinin estetik amaçlı olması nedeniyle SGK tarafından karşılanmayacağı ve tedavi için verdiğim ücretin hiçbir sebeple iade edilmeyeceği tarafıma bildirildi.

Eğitimsel ve bilimsel amaçlarla hastalığınız ve tedaviniz hakkındaki mevcut tüm kayıtlar (fotoğraf, film, röntgen vb.), kimlik bilgileriniz korunmak koşuluyla kullanılabilir.

Ortodontik tedaviniz aktif ve pasif olmak üzere iki dönemden oluşur ve hastalığınız şiddetine bağlı olarak yıl sürebilir.

ORTODONTİK TEDAVİ: Teller ve ağız içi ve/veya ağız dışı aygıtlar yardımıyla diş dizisinin düzeltilmesi işlemidir. Tedavi amacıyla kullanılacak aygıt, tel ve yardımcı malzemeler ve bunların kullanımları, tedaviniz planlandığında size ayrıntılı şekilde anlatılacaktır.

Bazı durumlarda yer darlığı sorununun giderilmesi için alt ve/veya üst çenelerden bir veya birkaç dişin çekilmesi gerekebilir. Diş çekimi ile elde edilen boşluklar diş dizisinin dışarıda duran dişlerin yerlerine alınması ile doldurulacaktır. Tedaviye başlamadan önce tüm dişler muayene ettirilmeli, varsa çürük dişler tedavi edilmeli, gereken dişlere kanal tedavisi yapılmalıdır.

2013 Tarihli ve 28597 sayılı Resmi Gazetede yayınlanarak yürürlüğe giren Sosyal Güvenlik Kurumu Sağlık Uygulama Tebliği (SUT) gereğince, 18 yaşını doldurmuş kişilerin ortodontik diş tedavilerine ilişkin giderler kurumca ödenmez (2.4.1). Estetik amaçlı yapıldığı tespit edilen sağlık hizmetlerine ilişkin giderler kurumca karşılanmaz (2.2). Bu sebeple tedavi süreci içerisinde 18 yaşını dolduran hastaların ve estetik amaçlı tedavi yapılan hastaların kurumlarınca ödenmeyen tedavi giderleri hasta tarafından karşılanır. Ayrıca, SUT EK-2/Ç-1 Madde 8 gereğince ortodontik tedavide kullanılan braket ve ortodontik materyal hasta tarafından karşılanır.

TEDAVİ PLANI

(Diş Çekimi, Ağız içi aygıt, ağız dışı aygıt, mini implant, diğer)

TEDAVİDEN BEKLENENLER: Dişlerdeki çapraşıklığın giderilmesi, çene kemiklerinin düzeltilmesi, ağırlıklı çiğneme fonksiyonunun kazandırılması, dental estetiğin sağlanması, yüz estetiğinin iyileştirilmesi.

TEDAVİNİN OLASI TEHLİKELERİ: Ortodontik tedavi sırasında hastalar bazı olumsuzluklar yaşayabilir. Dişlerdeki metal ve lastik aygıtlar geçici yeme-konuşma-yutkunma güçlüğü yaratabilir. Dudak-yanak ve dilde yaralar oluşabilir. Ağız bakımı zorlaşabilir. Kimi zamanda braketlerin kopması, tellerin kırılması gibi istenmeyen durumlar gelişebilir. Bu sıkıntıları kolayca atlatabilmek için bekimin talimatlarına mutlaka uyulmalıdır.

Tedavi sırasında yeterli fırçalanmayan dişlerde çürük, kahçı beyaz lekeler, diş etlerinde iltihaplar ve buna bağlı dişeti çekilmesi ve kemik kayıpları gelişebilir. Bu nedenle dişler ana ve ara öğünlerden sonra düzenli olarak, tüm gıda artıklarının uzaklaştırıldığından emin olana kadar fırçalanmalıdır.

Adres: İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Aydınlık Evler Mah., Cemil Meriç Cad. 6780 Sk. No:48
35640-Çiğli / İZMİR

Tel : (0) 232 325 40 40 (2500)
Fax : (0) 232 325 25 35
Web: <http://dsh.izk.edu.tr>

 İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TS EN ISO 9001:2015	T.C. İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ Diş Hekimliği Fakültesi	
	ORTODONTİK TEDAVİ İÇİN HASTA SÖZLEŞMESİ FORMU	Dok. No: FR/234/16 İlk Yayın Tar.: 12.09.2017 Rev. No/Tar.: 00/.. Sayfa: 1 / 1

1. Tedavi süresi ortalama 2-3 yıl olup, bazı durumlarda daha uzun olabilir. Hastanın tedavisinin tümünün kliniğimizde gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Herhangi bir nedenle, hastanın başka bir kliniğe nakledilmesi söz konusu değildir. (Fen Lisesi, üniversite sınavı, tayin ve başka nedenlerle ikametinin değiştirilmesinin söz konusu olacağı durumlarda tedaviye başlanmayacaktır. Tedavisi başlanmış hastaların kayıtları ise hiçbir şekilde kliniğimiz dışına verilmeyecektir.)
2. Randevu günü ve saati dışında gelen hastaya kesinlikle bakılmayacaktır. Önemli mazeretler nedeni ile randevu değişikliği istendiğinde bu isteğin randevu tarihinden önce telefon ile bildirilmesi gerekmektedir.
3. Ağız bakımına dikkat etmeyen, sık sık braketlerini koparan, aparatlarını kaybedip kıran, ^{hastanın} tavsiyelerine uymayan, randevularına düzenli gelmeyen ve tedavisi için gerekli aparatları kullanmayan hastaların tedavilerine son verilir.
4. Tedavi süresince doktorun tüm talimat ve önerilerine uyulması zorunludur.
5. Kullanım sırasında kırılan ve kaybolan aparatların yenilenme ücreti, düşen braketlerin ücreti ve yapıştırma ücreti bizzat hastadan tahsil edilecektir. Bu madde resmi hastalar için de geçerlidir. Kurumdan tahsilat yapılmayacaktır.
6. Hastanın tedavisi için gerekli olan malzemeleri hasta karşılayacaktır. Malzeme bedelinin hastanın kurumunca karşılanıp karşılanmayacağı kliniğimiz sorumluluğunda değildir.
7. 18 yaşından küçük hastalarda hasta uyumu ile ilgili tüm sorumluluk tamamen veliye aittir. Veli hastanın diş fırçalaması ve tedaviye uymasını sağlamakla yükümlüdür.
8. Hastanın tüm kayıtları yurtiçi ve yurtdışı bilimsel yayınlarda kullanılabilir.
9. Klinik kayıtları (ölçüler, filmler, fotoğraf vb.) alınan hastaların tedavi ücretlerinin tamamı kurumlara fatura edilmektedir. Bu yüzden her ne sebeple olursa olsun tedaviyi bırakan veya hekimi tarafından tedavisine son verilen hastalar, tekrar ortodontik tedavi olmak isterlerse ancak özel hasta olarak tedavi edilebilir.
10. Klinik kayıtları alındıktan sonra her ne sebeple olursa olsun tedaviyi terk eden ve ya tedavisine hekimi tarafından son verilen hastaların malzemeleri iade edilmez.

Yukarıdaki yazıları okudum, anladım ve kabul ediyorum.

Tarih:

Hasta Adı / Soyadı:

Velinin Adı / Soyadı:

İmza:

Braketlerle Yemek Yemek

Neleri yiyebilirsiniz? Neleri yememeniz gerektiğinden bahsedelim. Eğer birazcık kilo vermek istiyorsanız, braketli geçirdiğiniz ilk hafta sizin için aslında bir şanstır! İlk günler yumuşak gıdalarla geçinmelidir. Sert etten, ekmeğin sert kısımlarından, çiğ sebzelerden uzak durulmalıdır. Sert olan, çekirdekli olan, yapışkan olan ve braketleri koparabilecek her türlü gıdadan uzak durulmalı veya dikkatli yenmelidir. Örneğin çekirdekli gıdanın çekirdeği çıkarılarak, bazı sert gıdaların ise ısınarak yenmesi yerine, ince ince dilimlenerek yenmesi uygun olur. Bir süre sonra braketleriniz çıkacak ve salatalığı yeniden ısırabileceksiniz. Ancak, braketli olduğunuz sürece braketinizi ve aparatlarınızı korumanız gerekir. Bu tedavinin başarısını ve uygun zamanda tamamlanmasını da etkiler.

Sakıncalı Yiyeceklere Örnekler

- Pek de yumuşak olmayan yiyecekler: Ekmeğin veya pizzanın sert yerleri gibi
- Sert ve gevrek yiyecekler: Patlamış mısır, cips, dondurma külahları
- Yapışkan yiyecekler: Karamel ve karamelli şeker veya çikolatalar, sakız
- Sert yiyecekler: Fındık, fıstık, leblebi gibi kuru yemişler, sert şekerler
- Isırmak zorunda olduğunuz yiyecekler: Mısır koçam, elma, havuç, salatalık
- Sert şeyleri çiğnemek (örneğin kalem, tırnak vs.) braketlere zarar verebilir. Braketlerinizin zarar görmesi tedavinizin daha uzun sürmesine yol açacaktır.

Genel Rahatsızlık Hissi

Braketleriniz takıldığında, ağızınızda genel bir rahatsızlık hissedebilirsiniz veya dişleriniz 3-5 gün için ısırtma kuvvetlerine daha hassas olabilir. Bu durum, ılık tuzlu su gargarası ile hafifletilebilir. Bir çay kaşığı tuzu bir bardak suda çözün ve ağızınızla iyi bir şekilde gargara yapın. Eğer hassasiyet daha fazlaysa aspirin veya başağrısı ve benzeri ağrılarda aldığınız ağrı kesicilerden içebilirsiniz. Dudaklar, yanaklar ve dil de 1-2 hafta irite olabilirler. Bu süre içinde bu dokular, tellerin ve braketlerin yüzeyine karşı daha dirençli hale gelip yeni ortama alışır. Bu iritasyonu azaltmak için braketlerin üzerine koruyucu mum koyabilirsiniz. Size bunu nasıl yapacağınızı ortodontistiniz gösterecektir.

Dişlerin Hafif Sallanması

Bu durum tedavi süresince beklenen bir şeydir. Endişelenmeyin! Bu durum normaldir. Dişler önce serbest hale gelmelidir ki hareket edebilsinler. Yeni ve düzeltilmiş pozisyonlarına getirildiklerinden bir süre sonra, dişler yine eskisi gibi sıkı bir şekilde kemige tutunacaklardır.

Bandın, Braketin veya Telin Yerinden Çıkması

Telaşa kapılmayın, bu bazen olabilir. Eğer bir tel çıkıntısı yanağınızı veya dudağınızı acıtıyorsa, künt bir aletle(kaşığın arkası, silgi, kalemin arkası) dikkatlice ve yavaşça tel parçasını ark telinin arkasına itin. Eğer rahatsızlık devam ederse, telin üzerine koruyucu mum veya ıslak pamuk parçası yerleştirin. Kontrol ve durumun düzeltilmesi hemen ortodontistinizi arayıp randevu alın. Eğer her hangi bir parça (bant veya braket veya tel parçası) kopar ve yerinden çıkarsa onu saklayın ve gelirken yanınızda getirin.

Apareylere Gereken Özenin Gösterilmesi

Tedavi planının başarıyla tamamlanabilmesi için, hastanın ortodontistiyle beraber çalışması gerekir. Hastalar doktorun söylediği şekilde gerekli aparatlarını kullanmalı, elastiklerini veya headgearini takmalıdır. Ancak bu sayede çeneler ve dişler doğru konumlarına erişebilirler. Zarar görmüş aparatlar, tedavi zamanını da uzatacaktır.

Fırçalama

Braketlendiğiniz zaman, düzenli diş fırçalamaya ve diş ipi kullanımına eskisinden çok daha fazla özen göstermelisiniz. Ancak bu sayede ortodontik tedaviden sonra sağlıklı diş ve diş etleriniz olabilir.

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ ORTODONTİ ANABİLİM DALI SABİT ORTODONTİK TEDAVİ HASTA BİLGİLENDİRME FORMU

➤ Dişlerimi nasıl fırçalamayım?

Ortodontik tedavi sırasında kullanılan apareyler ve teller fırçalamayı güçleştirir. Bu nedenle dişlerde çürük riski ve dişeti hastalığı riski artar. Hasta, dişlerini günde en az 3 kere dikkatlice fırçalamalıdır. Bunun için hasta, diş fırçasını okul, işyeri gibi yerlerde de yanında bulundurmalıdır. Özellikle, dişin dişetine yakın bölgeleri de fırçalamaya dâhil edilmelidir. Aksi takdirde, diş çürükleri, dişlerde lekelenmeler ve dişeti problemleri oluşur. Bu aşamada oluşan ve çok derin olmayan diş çürükleri ağrıya neden olmasa bile, ileride braket çevresinde kahçı renklemelere neden olur. Bu durum estetiği olumsuz yönde etkileyecektir. Braketleri de fırçalamak gerektiği için özel ortodontik diş fırçaları kullanılabilir. Bazı durumlarda, hekim ara yüz fırçası tavsiye edebilir.

➤ Randevularım ne kadar sıklıkla olacak?

Vakanın durumuna göre 2-6 haftalık aralarla randevu verilir. Hasta bu randevulara mutlaka gelmelidir. Eğer gerçekten önemli bir mazeretiniz varsa bunu en az 1 hafta önceden bildirmanız gerekmektedir. Aksi takdirde, o ay için verilmiş olan rutin randevunuz iptal edilir. Hastalar randevularına gelirken mutlaka diş fırçasını ve diş macununu yanında getirmelidir.

➤ Tedavi ne kadar sürer?

Ortodontik tedavi süresi, her bir hasta için değişkenlik gösterir. Fakat hastanın randevulara gelmediği, sık sık braketini kopardığı, verilen elastik veya apareyleri kullanmadığı durumlarda bu süre uzar.

➤ Herhangi bir ağrı olacak mı?

Braketler, ağıza ilk yapıştırıldığında ağız içindeki yumuşak dokularda (dudak, yanağın iç yüzeyi gibi) hassasiyet oluşturabilir. Hasta, bunun için ilk zamanlarda braket üzerine mum yapıştırabilir. Bu hassasiyet zamanla ortadan kalkacaktır. Randevuları takiben ilk bir hafta içerisinde dişlerde hafif ağrılar olabilir, bu normaldir, hasta bu durumlarda ağrı kesici kullanabilir.

➤ Braketleri düşürmemek için nelere dikkat etmeliyim?

Hasta, ortodontik tedavi süresince akla gelebilecek her türlü sert yiyecekten (sert ekmek, cips, kabuklu kuruyemiş, şeker, çekirdekli ve sert meyveler..vb.), dişlere yapışan yiyeceklerden (lokum, sakız, çikolata...vb.), asitli içeceklerden (kola, portakal suyu, enerji içeceği..vb.) ve hamburger-tost gibi ısrarak yenilmesi gereken yiyeceklerden uzak durmalıdır. Ayrıca, hasta ortodontik tedavi süresince kontak sporlar yapmamalıdır.

➤ Braketlerim düşerse ne yapmalıyım?

Braketler düştüğü takdirde en kısa zamanda randevu ayarlayınız. Aksi takdirde, tedavi süreci yavaşlar ya da dişleriniz zarar görebilir. Eğer bu durum çok sık oluyorsa tedavinize son verilebilir! Randevunuza gelirken kırılan ya da düşen parçayı da yanınızda getiriniz.

➤ Ortodontik tedavide yaş sınırlaması var mı?

Sabit ortodontik tedavi için yaş sınırlaması yoktur. Fakat tedavinin başlayabilmesi için hastanın yaşı ne olursa olsun ağız hijyeni iyi seviyede olmalıdır (diştaşı veya dişeti hastalığı bulunmamalıdır), dolgu veya kanal tedavisi yapılacaksa bu tedavilerinin bitirilmiş olması gerekmektedir.



BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU
(Retrospektif Çalışmalarda Doldurulmayacak*)

[LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ!...]

Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrasında özgür iradenizle vermeniz gerekmektedir.

1. ARAŞTIRMAYLA İLGİLİ BİLGİLER:

Araştırmanın Adı: "Ortodontik Sabit Mekanik Kullanan Hastalarda NLRC4 İnflamazom Yolağı Gen Ekspresyon Düzeylerinin Prospektif Olarak Araştırılması"

Araştırmanın İçeriği: İKÇÜ Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim dalına rutin ortodontik tedavi görmek amacıyla gelen, ortodonti hastalarından belirli aralıklarla alınacak olan genetik materyallerde, NLRC4 inflamazom yolağının incelenmesi hedeflenmiştir.

Araştırmanın Amacı: Bu çalışmada, ortodontik sabit mekanik kullanan hastalarda NLRC4 inflamazom yolağı gen ekspresyon düzeylerinin prospektif olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmanın Öngörülen Süresi: 6-9 ay

Araştırmaya Katılması Beklenen Gönüllü Sayısı: 79

Araştırmada İzlenecek Uygulamalar ve Tedavi: (Araştırmada gönüllüye uygulanacak yöntemler ve tedaviler / (varsa invaziv girişimler) hastanın anlayabileceği şekilde anlatılmalıdır.)

Bu araştırmada, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Ortodonti AD Kliniğinde, rutin sabit ortodontik tedavi görmekte olan 79 hastadan 0. gün, 30. gün ve 180. günde alınan genetik materyal örnekleri alınacaktır.

2. ARAŞTIRMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR(LAR):

Bu alandaki moleküler aydınlanma ortodonti ve inflamazom arasındaki ilişki hakkında ufukumuzu genişletecek ve belki kronik inflamasyonun tedavisi için yeni moleküler ufuklar açabilecektir.

3. GÖNÜLLÜNÜN UYGULAMA SIRASINDA KARŞILAŞABİLECEĞİ RİSKLER VE RAHATSIZLIKLAR:

Yukarıda açıklanan araştırma sırasında uygulanacak olan işlem ve tedavilerin bana aşağıda belirtilen riskleri ve rahatsızlıkları getirebileceğinin bilincindeyim.

Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

4. GÖNÜLLÜLER İÇİN ARAŞTIRMADAN BEKLENEN TIBBİ YARAR:

..... Bu araştırmada uygulanan tedavi ile hastalığım kontrol altına alınabilir ya da araştırma sonucunda elde edilen bilgilerle hastalığımın tanısının konulması sağlanabilir. Ayrıca araştırmanın sonuçları başka insanların yararına kullanılabilir.

5.GEBELİK Aşağıdaki yazının bold karakter ile yazılmaması gerekiyor

..... nin doğmamış fetus ya da anne sütü emen çocuk için riskleri bilinmemektedir. Gebe ya da çocuk emziren kadınlar bu çalışmaya katılamazlar. En iyisi gebe olmadığınızdan ve çalışma boyunca gebe kalmamaya niyetli olduğunuzdan emin olmalısınız. Çocuk doğurma potansiyeliniz varsa çalışma doktoru sizinle uygun doğum kontrol yöntemlerini konuşacaktır. Çalışma sırasında gebe kaldığınızdan şüphelenirseniz, hemen çalışma doktoruna haber vermelisiniz. Gebe iseniz izniniz alınmadan araştırmadan çıkarılacaksınız.

6.ARAŞTIRMAYA SEÇENEK OLAN GİRİŞİMLER YA DA TEDAVİLER KONUSUNDA BİLGİLENDİRİLMİŞ

Yukarıdaki araştırmada uygulanacak tetkik ve tedaviye yönelik girişimler dışında hastalığınızla ilgili başka uygun yöntemlerin var olduğunu, ancak bu araştırmada uygulanmayacağını öğrendim. Eğer yukarıdaki çalışmaya katılmayı kabul etmezsem sözü edilen öteki tedavileri alma hakkına sahip olduğumun bilincindeyim.

7.ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILMA DURUMLARI

Uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız, gebe kalmanız veya çalışma ilacı ile ilgili bir yan etkiye maruz kalmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle doktorunuz sizin izniniz olmadan sizi çalışmadan çıkarabilir.

8.ARAŞTIRMA KAPSAMINDAKİ GİDERLERİN KARŞILANMASI

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

9.ARAŞTIRMAYA KATILMA DURUMUNDA HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır. Gerekirse yol giderlerinin vizit başına kısmı destekleyici tarafından karşılanacaktır. (eğer ödeme yapılacaksa ödeme miktarı yazılmalıdır)

10.ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN İRTİBAT

Uygulama süresi boyunca araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için ya da araştırma dışı bir ilaç almak durumunda kaldığınızda aşağıdaki doktor ile irtibat kurabilirsiniz.

Uzm.Dr. 1.Telefon:.....2.Telefon:.....

11.ZARARLARIN KARŞILANMASI:

Bu çalışmaya katıldığım için zarar göreceğim olursam, gerekli olan tıbbi bakımın sorumlu araştırmacı / doktor tarafından yerine getirileceği, çalışma ilacı ya da uygulanan işleme bağlı olarak gelişebilecek her tür tıbbi zarara karşı güvencede olduğum, masrafların tarafından karşılanacağı bana bildirildi.

12.GÖNÜLLÜLÜK, ARAŞTIRMAYI REDDETME VE ARAŞTIRMADAN ÇEKİLME HAKKI, ARAŞTIRMADAN ÇIKARILMA:

- Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
- Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
- Sorumlu araştırmacı / doktora haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim. Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediyim ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

İmza / Kaşe
Sorumlu Araştırmacı ad soyad

d. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / doktor ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle ya da almakta olduğum tıbbi bakımın kalitesini yükseltmek amacıyla, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

13. GİZLİLİK:

Çalışma süresince tutulan bütün kayıtlar ve dosya bilgileri gerektiğinde, ... firması ve yöneticilerine ulaştırılacaktır. Bu çalışmadan elde edilen bilgiler, uygulanan yöntemin ya da ilacın kullanımının onaylanması için verilere gereksinimi olan öteki ülkelerin hükümetlerine ve ilgili birimlerine iletebilir. Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

14. ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI:

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren **Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunu** kendi anadilimde okudum ya da bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma yeterli cevaplar aldım. Çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra çekildiğim durumda, hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verildi.

Gönüllünün Adı- Soyadı:

Yaş ve Cinsiyeti:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için;

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacı- Doktorun

Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Onam alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı- Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih:

İmza / Kaşe
Sorumlu Araştırmacı ad soyad

T.C.
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI

Ortodontik Sabit Mekanik Kullanan Hastalarda NLRC4 İnflamazom Yolağı Gen Ekspresyon Düzeylerinin Prospektif Olarak Araştırılması (iltihabi durumlara neden olan genetik değişkenlerin tespit edilebilmesi) isimli çalışma hakkında bilgilendirildim. Anlatılanları anladım. Çalışmaya katılmaya karar verdim. Alınacak genetik materyal örneklerinin istenilen zamanda verilmesini kabul ediyorum.

Hastanın Adı Soyadı:
İmza:

Valisinin Adı Soyadı:
(yakınlık derecesi)
İmza:

 TS EN ISO 9001:2015	T.C. İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ Sağlık Bilimleri Enstitüsü	
	YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLIK RAPORU FORMU	Dok. No: FR/200/30 İlk Yayın Tar.: 06.06.2018 Rev. No/Tar.: 00/... Sayfa: 1 / 1

İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ORTODONTİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA	
Tarih: .../.../.....	
Tez Konusu / Başlığı: "Ortodontik Sabit Mekanik Kullanan Hastalarda Nlrç4 İnflamazom Yoluyla Gen Ekspresyon Düzeylerinin Prospektif Olarak Araştırılması"	
Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler ve d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 114 sayfalık kısmına ilişkin, .../.../... tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %9 'dur.	
Uygulanan filtrelemeler: 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç, 2- Kaynakça hariç 3- Alıntılar hariç/dâhil 4- 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç	
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.	
Gereğini saygılarımla arz ederim.	
Tarih ve İmza	
Adı Soyadı: Berşan KARADEDE Öğrenci No: D171226002 Anabilim Dalı: Ortodonti Programı: Doktora (PhD) Statüsü: ☐ Y.Lisans ☒ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.	
<u>DANISMAN ONAYI</u> UYGUNDUR.	
Doç. Dr. İlknur VELİ (Unvan, Ad Soyad, İmza)	

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı :

Doğum Tarihi:

Yabancı Dil : İngilizce (ileri düzey)

Eğitim :

Doktora tezi : “Ortodontik Sabit Mekanik Kullanan Hastalarda Nlrc4 İnflamazom Yolağı Gen Ekspresyon Düzeylerinin Prospektif Olarak Araştırılması”, İKÇÜ SBE Ortodonti Programı (danışman: Veli İ, Berdeli A), Nisan 2021, İzmir.