T.C
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Bülend İNANÇ

MMP-9 VE MMP-8 GEN POLİMORFİZMLERİNİN PERİODONTİTİS İLE İLİŞKİSİ

(Uzmanlık Tezi)

Nevin KIRBIYIK

EDİRNE-2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez dönemim süresince, destek ve birikimlerini esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Bülend İNANÇ'a,

Uzmanlık sürecimde eğitimime katkılarını hep hissettiğim Dr. Öğretim Üyesi Yasin TEKİN, Dr. Öğretim Üyesi Ece AÇIKGÖZ, kıdemli asistan arkadaşlarım Uzm. Dt. Nevin YÜKSEK, Uzm. Dt. Münevver YETİŞGİN, Uzm. Dt. Şebnur METİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım Gizem Duygu ATEŞ ve Cansu BAYRAM başta olmak üzere bütün asistan arkadaşlarıma destekleri için teşekkür ederim.

Tezimin Biyofizik laboratuarındaki çalışmaları sürecinde emek veren Prof. Dr. Tammam SİPAHİ, Arş. Gör. Mustafa YILDIZ ve Arş. Gör. Damla Duru KOÇER'e katkıları ve yol göstermeleri için teşekkür ederim.

Her daim koşulsuz sevgilerini hissettiğim, aldığım her kararda beni destekleyen kıymetli aileme şükranlarımı sunuyorum.

Finansal olarak desteklerinden dolayı Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (2020-122) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **PERİODONTAL HASTALIKLAR** 3
- **HASTALIĞIN SINIFLANDIRILMASI** 3
- **PERİODONTİTİSİN ETYOLOJİSİ VE PATOGENEZİ** 8
- **MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR** 11
- **PERİODONTAL HASTALIKLARDA GENETİĞİN ROLÜ** 16

GEREÇ VE YÖNTEMLER 19

BULGULAR 26

TARTIŞMA 47

SONUÇLAR 52

ÖZET 53

SUMMARY 54

KAYNAKLAR 56

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

A.a. **:** Aggregatibacter actinomycetemcomitans

dH2O **:** Distile su

DNA **:** Deoksiribo nükleik asit

dNTP **:** Deoksinükleotid trifosfatlar

DOS **:** Diş eti oluğu sıvısı

eNOS **:** Nitrik oksit sentataz geni

Gİ **:** Gingival indeks

IL **:** İnterlökin

KAK **:** Klinik ataşman kaybı

KAS **:** Klinik ataşman seviyesi

LPS **:** Mmbran proteinleri

MMP **:** Matriks metalloproteinza

MPO **:** Myeloperoksidaz

NFκB **:** Nüklear faktör kappa B

OH- **:** Hidroksil iyonunu

P.g. **:** Porphyromonas Gingivalis

PAI-1 **:** Doku plazminojen inhibitör geni

Pİ **:** Plak indeks

PMNL **:** Polimorfnükleer Lökosit

PZR **:** Polimeraz zincir reaksiyonu

RFLP **:** Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi

RKK **:** Radyografik kemik kaybı

RNA : Ribonükleik asid

ROS : Reaktif oksijen türleri

SCD : Sondlama cep derinliği

SD : Sondlama derinliği

SKY : Sondlamada kanama yüzdesi

T.denticola : Treponema denticola

T.forsythia : Tannerella forsythia

TGF-β1 : Transforme edici büyüme faktör beta 1

TIMP : MMP'lerin doku inhibitörü

TNF α : Tümör nekroz faktörü alfa

TNP : Tek nükleotid polimorfizmi

tPA : Doku plazminojen aktivatör

UV : Ultraviole

VDR : Vitamin D receptör

GİRİŞ VE AMAÇ

Periodontitis çok yönlü bir hastalıktır. Tedavisinin yolu hastalığın patofizyolojisinin ve genetik açılımının iyi anlaşılmasından geçer. Mikrobiyal dental plak hastalığın temel faktörüdür. Ancak konağın bakteriyal plağa verdiği yanıt enflamasyonun yayılımını ve şiddetini önemli ölçüde etkilemektedir. Konak yanıtındaki bireysel farklılıklar genetik açıdan farklılıklarla ilişkilendirilmiştir.

Matriks metalloproteinazlar konak savunmasında ekstrasellüler matriksin yapımının ve yıkımının en önemli mediatörlerindendir. Periodontal dokuların ve periodontal ligamentin ana yapısını oluşturan ekstrasellüler matriks özellikle tip 1 kollajenden zengindir. Yıkımının etkileri klinik ataşman kaybı gibi klinik parametreler ile gözlenir. Proteolitik enzim ailesinden olan MMP'ler fizyolojik doku yenilenmesi sürecinin parçası olduğu kadar patolojik hastalık mekanizmalarında da önemli etkiye sahiptir. MMP-8 ve MMP-9 'un DOS ve periodontal dokulardan alınan örneklerde yüksek olduğu görülmekle beraber hastalık sürecinde etkinliğinin arttığı düşünülmektedir.

Genetik faktörlerle ilişkisine bakıldığında, periodontitisin diyabet, kalp ve akciğer hastalıkları gibi basit bir mekanizmayla açıklanamayan multifaktöriyel bir hastalık olduğu düşünüldüğünde sadece tek bir gen bölgesinin bu mekanizmayı açıklamakta yetersiz olacağı belirtilmektedir. İmmünolojik cevabın aşamalarındaki birçok faktörle ilişkili yapılan TNP çalışmalarında ilişkili sonuçlar olduğu gibi farklı toplumlarda yürütülen çalışmalarda genetik varyasyonların sebep olduğu anlamsız sonuçlar da bulunmaktadır.

MMP-9 Q279R gen bölgesinin periodontal hastalık açısından farklı toplumlarda ilişkisini değerlendiren çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarla metaanalizler birbiriyle

çelişkili çıkarımlar yapmaktadır. MMP-8 Lys87Glu gen bilgesiyle ilgili periodontitis açısından herhangi bir çalışma yoktur. Ancak sistemik hastalıklarla ilişkili sonuçlar literatürde bildirilmiştir.

Çalışmanın amacı MMP-8 Lys87Glu ve MMP-9 Q279R polimorfizmlerinin güncel sınıflamaya dayalı olarak periodontitis ile ilişkisini Türk toplumunda Trakya bölgesi çevresinde incelemektir. Genotip ve allel dağılımlarının fenotipe yansımalarını sigara içen ve içmeyen gruplarla, periodontitisin evreleriyle detaylı şekilde değerlendirmektir.

GENEL BİLGİLER

PERİODONTAL HASTALIKLAR

Periodontitis, dişleri ve çevresindeki dokuları etkileyen günümüzde başarılı bir tedavi şansı bulunan, kronik enflamatuar ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Çok sayıda mikroorganizmanın ve genin sorumlu olduğu bilinmektedir. Hastalığın patogenezi çözüldükçe idamesindeki başarı oranları da artmaktadır. Günümüzdeki tedavilerle dişlerin periodontal sebeple kaybının eskiye oranla azaldığı ortaya konulmuştur. Hastalıkta ideal bakım ve hastalığın yönetimi için detaylı klinik değerlendirme ve bireysel risk değerlendirmesi şarttır. Bunlar için çeşitli indeksler alınır ve hastanın anamnezi ile detaylı bir değerlendirme yapılmaktadır.

Hastalık kendini periodontal doku desteğinin kaybı, klinik ataşman kaybı (KAK), radyografik olarak değerlendirilen alveolar kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve diş eti kanaması ile göstermektedir. Periodontitis %15-20 prevalansı ile dünya çapında en yaygın hastalıklardan biri olarak kabul edilmektedir (1).

HASTALIĞIN SINIFLANDIRILMASI

Değerlendirmeyi kolaylaştıran en yeni iki sınıflama 1999 ve 2017 yıllarında oluşturulmuş sınıflamalardır (2).

1999 sınıflamasında Armitage periodontitisi kronik periodontitis ve agresif periodontitis olarak iki ana tipe ayırır (3). Bunun yanı sıra sistemik hastalıkların bir sonucu olarak periodontitis, nekrotize periodontal hastalık ve apseler olarak da ek gruplara ayrılmıştır. Kronik periodontitis genelde yavaş ve yıkıcı karakterdedir. Agresif periodontitis daha önce

“erken periodontitis” ve “hızla ilerleyen periodontitis " olarak sınıflandırılmış, öncelikle genç bireyleri etkileyen bir periodontitis formu olarak belirtilmiştir. Sistemik hastalığın sonucu olarak görülen periodontitis ise bir belirti olarak oluşan sistemik hastalık grubunda gözlenen hastalardaki formudur. Nekrotize periodontal hastalıklar, dişeti veya periodontal dokuların nekrozunun belirgin bir özellik olduğu ve bununla karakteristik bir fenotipi paylaşan periodontitis tipidir. Periodontal abseler, periodontal dokuların hızla yıkıma uğradığı akut periodontal hastalıktır. Endodontik lezyonlara birlikte görülen periodontitisler ise kök kanal lezyonlarıyla ilişkili ya da kök kanalı kaynaklı olabilen periodontitis hastalık grubuna aittir.

Kronik periodontitis klinik özellikleri için bölgeye özgü olduğu, subgingival diş taşı bulunduğu, alveoler kemik kaybı ve klinik ataşman kaybının olduğu belirtilir. Bölgeye özel olması sebebiyle de etkilediği alana ve diş sayısına bakılarak lokalize veya generalize olarak ayrılır. Lokalize kronik periodontitis için ataşman ve kemik kaybından etkilenen alan tüm ağzın %30’u veya daha azı iken generalize kronik periodontitis için etkilenen alan tüm ağzın %30'undan daha fazlasıdır. Sıklıkla erişkin popülasyonda görülür. Hastalık şiddeti klinik ataşman kaybına göre hafif, orta ve şiddetli olmak üzere de üçe ayrılabilir. Hafif seyreden formunda 1-2 mm, orta şiddette 3-4 mm, şiddetli kategoriye ayrılan formunda ise 4 mm’den fazla klinik ataşman kaybı gözlenir. Kronik periodontitisin ilerleme derecesi vakadan vakaya değişebilmektedir. Vakaların çoğunda yavaş ve orta düzeyde hastalığın ilerlediği belirtilse de çoğu hasta ile klinikte alevlenme dönemlerinde karşılaşılmaktadır. Yaşın artışıyla kronik periodontitisin prevalansının artışı gözlenir. Periodontal ortamın mikrobiyal dental plak adı verilen konak yanıtını başlatan bakteriyel ana faktöre olan uzun süreli maruziyetinden kaynaklanmaktadır. Genellikle erişkinlerde görülmekle birlikte, plak ve diştaşı birikimine bağlı olarak çocuklarda ve gençlerde da görülebilmektedir (4).

Hastalığın yıkım miktarı; ağız hijyeni, mikrobiyal dental plak düzeyleri ve içerikleri, lokal hazırlayıcı faktörler ve sigara, genetik faktörler, stres ve diğer sistemik risk faktörleriyle ilişkilidir. Çalışmalar plak birikimine karşı diş eti iltihabı cevabının başlangıcının ve şiddetinin kişiler arasında farklılık gösterdiğini kanıtlar niteliktedir. İlk çalışmalarda plağın niceliksel birikim derecesi ve plak içerisindeki niteliksel olarak bakteri türlerinin çeşitliliğinin, iltihabı kişiden kişiye göre farklılaştırdığı düşünülse de yeni çalışmalar hastalığa duyarlılığın özellikle genetik kaynaklı konak yanıt ilişkisine bağlı olduğunu belirtmektedir (5, 6).

2017 yılına gelindiğinde yapılan çalıştayda yeni bir sınıflama çerçevesi ve yeni bir periodontal sağlık tanımı geliştirilmiştir.

Periodontal sağlık tanımında iki boyut vardır. Dişin destek dokularında kayıp olmaksızın sağlık kriterlerine sahip olması diğeri de periodontal destek kaybı olan dokularına

karşılık sağlık kriterlerini karşılamasıdır. Sağlık kriterleri diş eti dokularının temas ile kanamaması, diş eti yüzey girintilerinin korunması, epitelle hasarsız yüzeyin örtülmesi, şiş ve kızarıklık ile karşılaşılmaması sağlığın tanımını veririr (7). Parametreler olarak değerlendirirsek klinik ataşman kaybına bakılmaksızın sondlamada kanamanın yüzde 10' un altında olması sondlama derinliğinin yalancı cepler harici 4mm den fazla olmaması olarak güncellenmiştir (7).

Patofizyoloji hakkındaki mevcut bilgilerle tutarlı olarak, üç periodontitis formunun tanımlanabileceği kabul edilmiştir (8). Bunlar Nekrotizan periodontitis ve sistemik hastalığın bir tezahürü olarak periodontitistir. Daha önce "kronik" veya "agresif" olarak kabul edilen hastalığın formları ise "periodontitis" başlığında şimdi tek bir kategori altında gruplandırılmıştır. Bunların haricinde "*stage*" ve "*grade*" olarak hastalığın seyri ve prognozunu belirlemek için alt basamak yol haritaları da oluşturulmuştur. Evreleme (*stage*) dört kategoriyi içerir; klinik ataşman kaybı, kemik kaybının miktarı ve yüzdesi, sondalama derinliği, açısal kemik defektlerinin prevalansı ve derecesi ve furkasyon tutulumu, diş hareketliliği ve periodontise bağlı diş kaybı gibi çeşitli değişkenler dikkate alındıktan sonra belirlenir. Hastalığın idare edilmesindeki karmaşıklığı ve zorluğu ortaya koyar.

Tablo-1 Periodontitits Sınıflaması (8)

PERİODONTİTİS		
NEKROTİZE PERİODONTAL HASTALIKLAR	PERİODONTİTİS	SİSTEMİK HASTALIKLARIN BİR BELİRTİSİ OLARAK PERİODONTİTİS

1. Evre: Başlangıç düzeyinde periodontitis
2. Evre: Orta düzey periodontitis
3. Evre: İleri düzey periodontitis, diş kaybı riski ile birlikte
4. Evre: İleri düzey periodontitis, total dişsizlik ile birlikte

Tablo -2 Periodontal Hastalıkların Evrelendirilmesi (7, 9)

Periodontitisin evresi		**Evre 1**	**Evre 2**	**Evre 3**	**Evre 4**
Şiddeti	En fazla kaybın olduğu dişte interdental KAK	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radyografik kemik kaybı (RKK)	Koronal 1/3 (<%15)	Koronal 1/3 (%15-%33)	Kökün yarısından fazla	Kökün yarısından fazla
	Diş kaybı	Periodontitis ilişkili diş kaybı yok		Periodontitis ilişkili diş kaybı ≤4	Periodontitis ilişkili diş kaybı ≥5
Kompleksite	Bölgesel SCD	Maksimum SD ≤4mm Genelde Yatay kemik kaybı	Maksimum SD ≤5mm Genelde Yatay kemik kaybı	Evre 2'ye ek SD≥6mm dikey kemik kaybı≥3mm Furkasyon tutulumu Sınıf II-III Orta şiddette kret kaybı	Evre 3'e ek Çiğneme yetersizliği Sekonder oklüzal travma (Mobilite≥ 2mm) Şiddetli kret kaybı Posterior diş kaybı sonucu kapanışın bozulması Dişlerde yer değiştirme-öne doğru açılması Karşılığı olan 10 dişten, toplamda 20 dişten az diş varlığı
Yayılım ve yaygınlık	Her evreye açıklama olarak ek	Etkilenmiş diş sayısına göre dişlerin %30' undan azı etkilendiğinde yerel, daha fazlası genel veya kesici-molar tiplemesi olarak evreye ilave edilecek			

Derecelendirme (*grade*) periodontitisin ilerlemesi, genel sağlık durumu ve diyabet, sigara veya metabolik kontrol seviyesi gibi diğer maruziyetlerle ilgili değerlendirmeyle 3 sınıfta incelenir. İlerleme hızını ve tedaviye beklenen yanıtı ortaya koyar(9).

Sınıf A: Yavaş ilerleme

Sınıf B: Orta hızda ilerleme

Sınıf C: Hızlı ilerleme

Tablo-3 Periodontal hastalıkların derecelendirilmesi (7, 9)

Periodontitisin dereceleri			**Derece A**	**Derece B**	**Derece C**
Öncelikli kriter	İlerlemenin doğrudan bulgusu	Uzun döneme ait kayıtların üzerinden (KAK ve RKK)	5 yıldan fazla kayıp olmaması	Son 5 yıldaki kayıp <2mm	Son 5 yıldaki kayıp≥2mm
	İlerlemenin dolaylı bulgusu	% RKK/yaş	<0,25	0,25-1	>1
		Fenotip	Yoğun plak-az hasar	Plak birikimi ile orantılı hasar	Mevcut plak yoğunluğuna göre fazla hasar Hızlı ilerleme veya erken başlangıç düşündüren klinik modeller
Dereceyi değiştirebilen özellikler	Risk faktörleri	Sigara	-	< 10 sigara	≥10 sigara
		Diyabet	-	HbA1c < 7	HbA1c ≥ 7

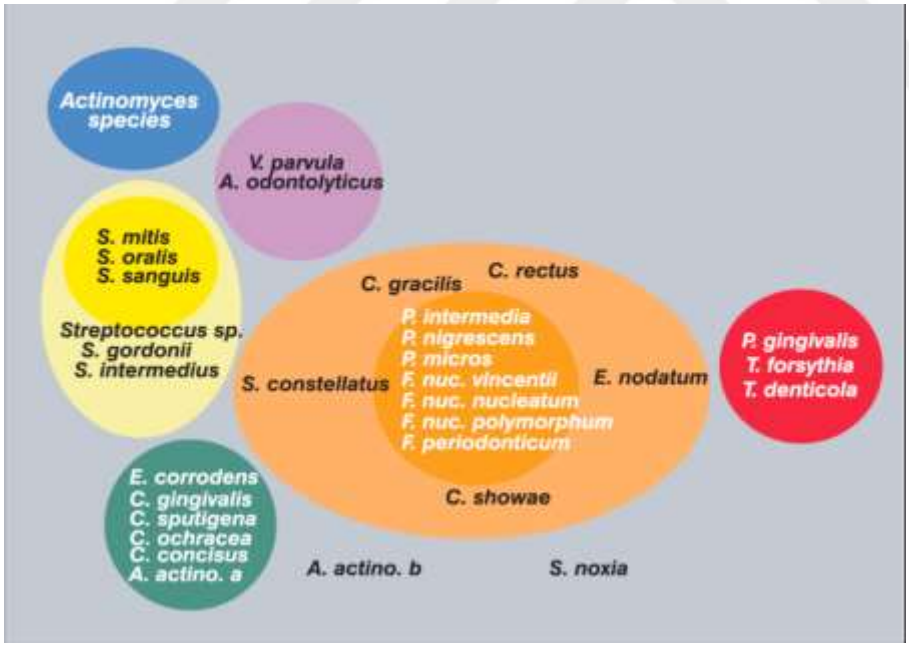
Enflamasyona bağlı periodontal doku desteğinin kaybı periodontitisin birincil özelliğidir. İnterproksimal alanda eşik değer olarak 2 mm veya daha fazla olan ataşman kaybı ya da bukkal ya da lingual yüzeyde 3mm den fazla cep derinliği ile klinik ataşman kaybının 2 veya daha fazla komşuluğu olmayan dişte bulunması ile periodontitis tanısı konur. Ancak KAK periodontitis ile ilişkili olmadığı düşünülen sebeplerle olmamalıdır. Bunlar travmatik sebepli diş eti çekilmeleri, servikal alandaki çürükler, taşkın restorasyonlar, endodontik sebepli lezyonların sinüs yolları, malpozisyonlar, kök kırıklarıdır. Periodontitisi diğer faktörlerden elimine ederek daha doğru teşhise götürecektir (9). Çalışmada bu kriterlere dikkat edilmiştir. Yeni sınıflamalar ile yapılan çalışmalarda daha doğru karşılaştırmalara ve vaka raporlarına ulaşılacaktır.

PERİODONTİTİSİN ETYOLOJİSİ VE PATOGENEZİ

Periodontitisin temelindeki etyolojik faktörün özellikle anaerobik bakterilerle ilişkili olması sonucunda mikrobiyal dental plak varlığı kabul gören bir görüş olmuştur. Bakteriyel organizmaların çevresel etkilerle fırsatçı olarak artması, virülans faktörlerinin konak savunmasına etkisi, konağın savunma mekanizmasının zayıflaması ya da bu durumların beraber olması ağız içindeki sağlık dengesini bozar ve hastalık oluşturmaktadır. Mikrobiyal dental plak polimerler ve ekstrasellüler matriks ile diş yapısının üzerinde biyofilm adı verilen yapıyı oluşturan mikroorganizma topluluğudur (10).

Biyofilmdeki bakteriler interaktif olarak birbirileriyle iletişim halinde topluluk oluştururlar. Koaggregasyon, metabolik etkileşim ve hücre-hücre sinyalleşmesi gibi birbirileriyle olan etkileşim şekilleri periodontal hastalık yapma potansiyelinde önemli rol oynar.

Periodontal hastalıkta bulunan bakteriyel kompleksler subgingival plak örnekleriyle yapılan çalışmalar sonucunda 6 farklı birliktelik ile tanımlanmıştır (11).



Şekil 1. Mikrobiyal Kompleks(11)

Piramidin tabanında yer alan bakteriler, erken kolonize olan ve daha çok sağlıkla ilişkilendirilen türlerdir. Bunlar baskın olarak *Streptecoccus* türlerinden oluşan sarı birliktelik, *Capnocytophaga* türlerinin çoğunlukta olduğu yeşil birliktelik, *Actinomyces* türlerini içeren mavi birliktelik, *V.parvula* ile *A.odontolyticus*'u bulunduran mor birliktelikten oluşmaktadırlar.

Turuncu birliktelik, dental plağa daha sonradan kolonize olan *Fusobacteria, Prevotella* ve *Campylobacter* türlerini bulundurmaktadır. Piramitin en tepesindeki kırmızı birliktelik, *P.gingivalis, T.denticola* ve *T.forsythia* olmak üzere üç bakteriyel türden oluşmaktadır ve bu türler hastalığın patogenezinde en etkili olan türler olarak bilinmektedir.

Turuncu birliktelikteki bakterilerin ise kırmızı birliktelikteki bakterilerin bağlanmalarında köprü görevi gördüğü ve bu zor üreyen türlerin çoğalmasını kolaylaştırmak için optimal ortamı oluşmasına katkı sağladığı düşünülmektedir (11).

Türler arası sinyal molekül sistemi için; bakteriyel yoğunluğa bağlı ve bakteriler tarafından sentezlenen "*quorum sensing*, çoğunluğu algılama" adı verilen, otoindükleyici olan sinyallerle iletişim yolu kurulmuştur. Sinyaller ve yanıtlar bakterilerin doğal çevrelerinde üremelerini, hayatta kalmalarını sağlar ve topluluğun türünde kayma ile hastalık potansiyeli oluşturur.

Biyofilmin gelişmesiyle *Streptecoccus* ve *Actinomyces* olan kommensal bakterilerin sayılarının ve çeşitliliğin artmasıyla patojen türlerin diğer bir deyişle sınıflandırmada kırmızı ve turuncu kodlanan birlikteliklerin katılma olasılığı fiziksel iletişim (*koaggregasyon*) yoluyla gerçekleşir.

Periodontitis ile çok kuvvetli ilişkide olan bakteriler *Aggregatibacter actinomycetemcomitans (A.actinomycetemcomitans) Treponema denticola (T.denticola) Tannerella forsythia (T.forsythia) Porphyromonas Gingivalis (P.gingivalis)* olarak değerlendirilmiştir (12, 13).

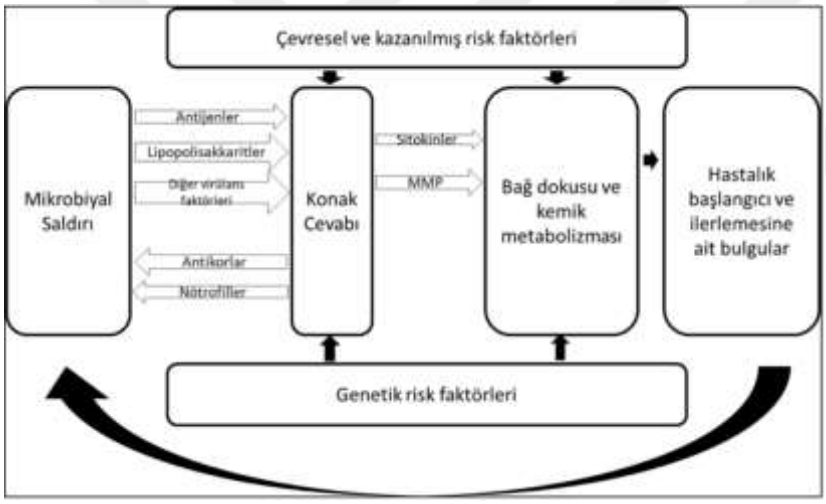
Dental plaktaki mikroorganizmaların periodontitise sebep olduğu birçok kaynak tarafından kabul görse de bu durum tüm bireylerde aynı düzeyde diş kaybına ve kemik yıkımına ilerlememektedir. İmmün yanıt ve genetik farklılıklar bağ dokusunun, ilerlemişse kemik yıkımının ve klinik olarak gözlenen birleşim epitelinin apikale göçünü etkilemektedir.

Konak savunma sistemi; bağlantı epiteli ile bakterilerin membran proteinleri (LPS), ekstrasellüler olarak salınan enzimler ve toksinler karşı karşıya geldiğinde dentritik hücrelerden, langerhans hücrelerinden ve epitel hücrelerinde salınan proinflamatuar sitokinler, kemokinler, matriks metalloproteinazlar gibi inflamasyonun diğer molekülleri ortama çıkmaktadır. Bakteriler, konak savunma sistemini aktive ederek inflamatuar yanıtı başlatır. Konağın patojene verdiği yanıt periodontal hastalıkta bağ dokusu ve alveoler kemik yıkımından asıl sorumlu olan faktördür. Konak yanıtını genetiğin, sosyoekonomik durumun, stres, sigara ve diyabet gibi çevresel ve kazanılmış risk faktörlerinin yönlendirdiği belirtilmektedir (14).

Periodontal hastalıkların patogenezinde sırasıyla kolonizasyon, invazyon, doku yıkımı, iyileşme ve fibrozis aşamaları mevcuttur. İnflamasyonun başlaması gibi çözülmesi de

homeostatik dengenin restorasyonu için doğal bir süreçtir ve inflamatuar reaksiyonun aktivasyonu ile neredeyse aynı anda gerçekleşir. Bu iki mekanizma birbirine karşı koyarken, özünde, aynı hücre tipleri ve moleküler aktivasyon kalıpları, inflamatuar yanıtların hem aktivasyonunu hem de deaktivasyonunu düzenler (15).

Periodontal hastalığın patogenezinde oral biyofilm kolonizasyon ile karmaşık bir immüno-enflamasyon süreci başlar. Dört aşamayı içine alan histopatolojiye göre düzenlenen hastalık gelişim safhaları oluşur. Periodontitisin gelişimi, gingivitisle başlayan başlangıç lezyonu için nötrofillerin hâkim olduğu hücresel infiltrasyonun karmaşıklığındaki bir artışla, erken lezyon için makrofajların ve T hücrelerinin ve daha sonra yerleşik ve ileri lezyonlarda baskın olan B ve plazma hücrelerinin sayılarıyla ilişkilidir (16). PMNL hücrelerin arkasından gingival olukta monosit, makrofaj, lenfositlerin birikimi başlar. Makrofajlar lökosit ve ölü dokuları fagositoza uğratır.



Şekil 2. Periodontitisin Patogenezi(17)

Fizyolojik savunma mekanizması ile mikrobiyal dental plağa karşı başlayan süreçte hızlı ve kısa süreli cevap oluşmaktadır. Lezyon ile başa çıkılamadığında iltihapsal yanıt patojenik olarak kronik aşamaya kaymaktadır. Kazanılmış bağışıklık sistemi devreye girer. Inflamatuar yıkım başlangıçta nonspesifiktir. İmmün sistem mikroorganizmaya özgü spesifik yanıt için langerhans hücreleri gibi antijen sunan hücrelerin lenfositlere antijen sunmaları ve T hücrelerinin uyarılması ile humoral yanıtı başlatır. B hücreleri plazma hücrelerine dönüşür, B hücreleri immünglobulin olarak da bilinen antikorları üreterek immün korumayı sağlamaktadır. Humoral bağışık yanıt hücresel immünitenin yönlendirdiği inflamatuar yanıtı etkiler.

Sürecin tamamında bakteriler çok çeşitli enzimler ve metabolik ürünler üretirler. Bunlar proteazlardır; kollagen, fibrin, elastin gibi epitel ve bağ dokudaki intersellüler matrisi parçalarlar. Mikrobiyal proteazların yanı sıra konağın salgıladığı matriks metalloproteinazlar vardır. İnflamasyonun birçok aşamasında nötrofillerden, T hücreleri tarafından sinyaller alabilir, enflamatuar hücreler, keratinositler, endotel hücreleri ve fibroblastlar tarafından sentezlenebilmektedirler.

MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR

Matriks metalloproteinazlar (MMP) ekstrasellüler matriks makromoleküllerinin parçalanmasından ve yeniden şekillenmesinden sorumludur. Yaklaşık 28 adet enzimden oluşan geniş bir proteolitik enzim ailesidir (18).

Tablo 4 Matris Metalloproteinazlar Ve Matris Substratları (19)

ENZİM	MMP	Matris Substratları
Kollegenazlar		
İnterstisyal kollagenaz (Kollagenaz 1)	MMP-1	Tip I,II,III, VII, X kollagen ,jelatin, entaktin,agrekan,tenaskin
Nötrofil kollagenaz (Kollagenaz 2)	MMP-8	
Kollegenaz 3	MMP-13	
Jelatinazlar		
Jelatinazlar A	MMP-2	Jelatin,Elastin, fibronektin, tip I,IV, V,VII, X,XI kollagen, fibrin, fibrinojen,entaktin, tenaskin,vitronektin
Jelatinazlar B	MMP-9	
Stromelizin		
Stromelizin 1	MMP-3	Proteoglikan, laminin, fibronektin,jelatin, Tip II,IV,V, IX, X, XI kollagen, fibrin,fibrinojen,entaktin, tenaskin,vitronektin
Stromelizin 2	MMP-10	
Stromelizin 3	MMP-11	Laminin,fibtonektin, agrekan
Matrilizin		
	MMP-7	Proteoglikan, laminin,fibronektin,jelatin, Tip II, IV,V,VII, X, XI kollajen fibrin, fibrinojen, entaktin,tenaskin, vitronektin
	MMP-26	Jelatin tip IV kollajen, fibronektin,fibrinojen
Membran Tip		
MT1-MMP	MMP-14	
MT2-MMP	MMP-15	
MT3-MMP	MMP-16	Jelatin,fibronektin,kollajen, agrekan
MT4-MMP	MMP-17	jelatin
MT5-MMP	MMP-24	
MT6-MMP	MMP-25	Jelatin, tip IV kollajen, fibrin, fibronektin, laminin-1, proteoglikanlar
Metalloelastaz	MMP-12	Elastin,fibronektin,fibrin/fibrinojen Laminin, proteoglikan

Çinko ve kalsiyum bağlanan katalitik bölgeleri bulunur. MMP'ler metal iyonlarına bağlı endopeptidazlardır. Latent formda salgılanıp çinko-sistein bağının ayrılmasıyla aktif hale gelirler (19). Embriyonik gelişme, yara iyileşmesi ile bağ dokusunun şekillenmesi, anjiogenez gibi fizyolojik olaylarda rolü vardır. Çeşitli hormonlar, büyüme faktörleri ve proenflamatuar sitokinler tarafından indüklenerek bazal mebran komponenetlerinin ayrılması, hücre yüzeyindeki adheziv moleküllerin ve kemoatraktanların etkilenmesiyle hücre hareketini ve göçünü yönlendiren kemotaktik sinyalleri oluştururlar (20, 21). Doku MMP inhibitörü ise MMP'lerin doku inhibitörü (TIMP) adını taşır. Proteolitik aktivitesini spesifik olarak düzenlemektedir. MMP doku homeostazını düzenlemek ve onarmak için farklı özelliklere sahip biyolojik olarak birçok önemli molekülü işlediği bilinmektedir. Gingival doku ve periodontal ligamet fibroblastlarından üretilen kollagenazların normal doku yenilenmesinde işlev gördüğü düşünülmektedir (22, 23). Periodontitis benzeri hastalıklarda olduğu gibi MMP sadece fizyolojik gelişim ve dokunun yeniden şekillenmesinde değil, aynı zamanda patolojik inflamatuar olaylarda ve malin doku yıkımında da etkili olan yapısal olarak ilişkili, ancak genetik olarak farklı bir proteaz süper ailesini temsil etmektedir. Aktif matriks metaloproteinazlar ile konakçı kaynaklı endojen inhibitörleri arasındaki dengesizliğin periodontitis ve diğer birçok hastalık sırasında ekstraselüler matriksin patolojik olarak parçalanmasına yol açtığı gösterilmiştir (24).

MMP'ler hücre yüzey reseptörü, sitokin ve kemokin gibi moleküllerin aktivitelerini etkiler ve patolojik olaylarda konak cevabını yönlendirmektedirler.

Vücutta kemotaksis ve degranülasyonu işleyen mekanizmalar kollajen konsantrasyonunda da söz sahibidir. MMP hücre içi regülasyonunun sitokinlere, araşidonik asit metabolitlerine ve büyüme faktörlerine bağlı olması beklenir. Bu sayede MMP ve immün sistem mekanizmaları ilişkilidir (25).

Temel büyük gruplardan MMP-8 intersitisyel kollajenaz iken MMP-9 ise jelatinaz ya da tip 4 kollajenaz adını alır, MMP-8 polimorfonüklear lökositlerin spesifik granüllerinde bulunur. Periodontitiste ana kollajen parçalayıcı enzim, esas olarak nötrofiller tarafından üretilen matris metalloproteinaz-8'dir (26-28). Bu enzim, hastalıklı periodontal dokuda dişeti oluğu sıvısında ve tükürükte bulunur. Matris metalloproteinaz-8'in ana işlevi interstisyel kollajenlerin bozulmasıdır. MMP-9 jelatinaz B ise polimorfonüklear lökositlerle ve makrofajlarla olduğu kadar uyarılmış bağ dokusu hücreleri ve tümör hücreleriyle de ilişkildir. Jelatinazlar denatüre kollajenin, bazal membranın ve tip 4 kollajenin yıkımında önemlidir. Matris metalloproteinaz-9, sadece nötrofiller tarafından değil, aynı zamanda çalışmalarda hücre kültürüyle sağlanmış epitel hücrelerinden de elde edilmektedir. Matris metalloproteinaz-9

üretimi, özellikle tümör nekroz faktörü alfa, epidermal büyüme faktörü ve lipopolisakkarit ve fosfolipaz C gibi bazı bakteriyel ürünler olmak üzere çeşitli sitokinler tarafından uyarılır (29, 30).

MMP'lerin aktivasyonunun düzenlenmesi 4 aşamada gerçekleşir (31):

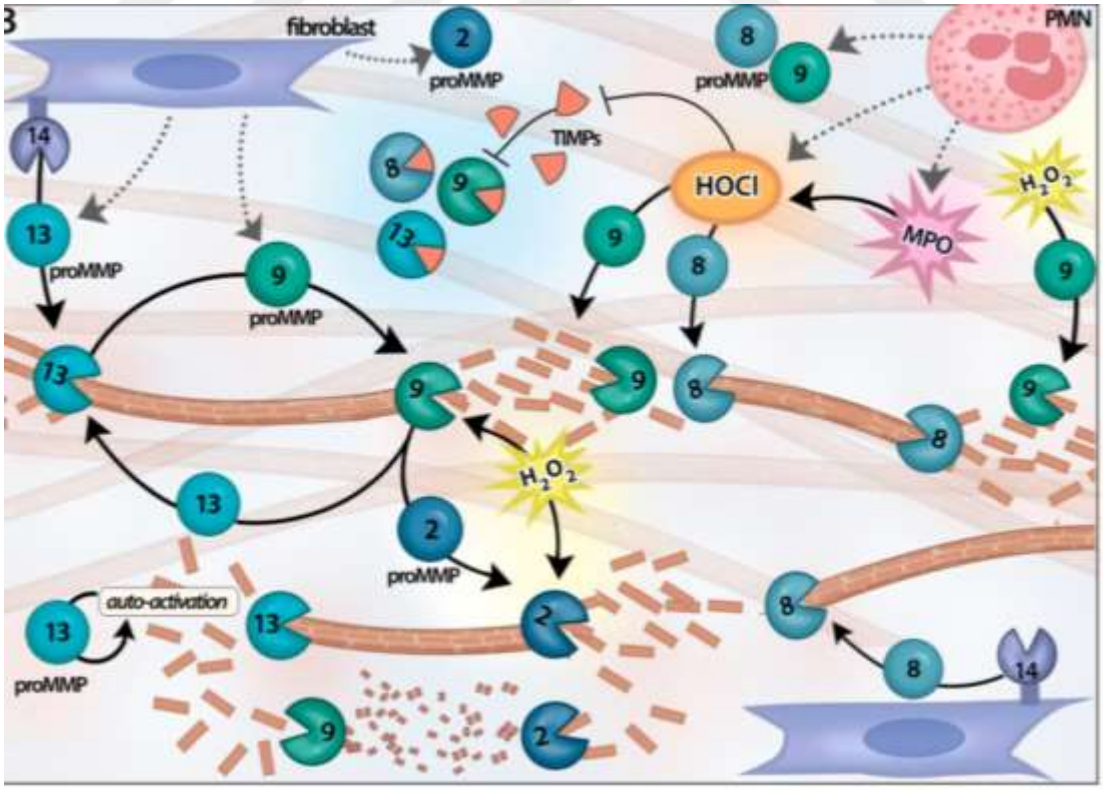
1)MMP genlerinin transkripsiyonel regülasyonu

2)Prekürsör aktivasyonu

3)Substrat spesifitesindeki farklılıklar

4)MMP inhibitörleri

Net proteinaz aktivitesi düzeyi aktif MMP ve TIMP'lerin konsantrasyonlarına bağlıdır. TIMP'ler fibroblastlar, keratinositler, makrofajlar ve endotelyal hücreler gibi çeşitli hücrelerden salınırlar ve vücut sıvılarına, dokulara dağılırlar. Tüm TIMP'ların MMP inhibisyonu etkisi, TIMP'ın N-terminali ile MMP'nin katalitik bölgesindeki aktif alanı ve substrat bağlama bölgesi arasındaki etkileşime bağlıdır. Bugüne kadar tanımlanmış 4 farklı tip TIMP mevcuttur. TIMP-1'ın MMP-9'a, TIMP-2'nin MMP-2'ye, TIMP-3'un MMP-9 ve MT1-MMP'ye afinitesi daha yüksek iken TIMP-4'un tüm MMP tiplerine etki ettiği ve spesifik bir afinite göstermediği bilinmektedir (32, 33).



Şekil 3 MMP aktivasyon yolakları (34)

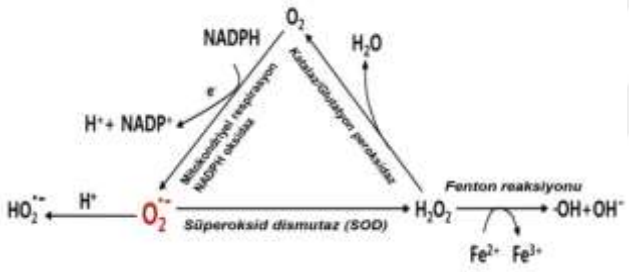
MMP aktivasyonu dokuya spesifik ve hastalığın gerçekleştiği ortam dinamiklerine bağlıdır.

Proteolitik yolak için, MMP-13 gingival dokulardaki proMMP-9'un aktive olmasını sağlar. MMP-13 kendisinin oto-aktivatörüdür aynı zamanda MMP-9, proMMP-2 ve proMMP-13'ün aktivatörüdür (35). MMP-13, MMP-14 ve MMP-8 çalışmalarda periodontal dokulardaki seviyeleri hastalık ile ilişkili bulunmuştur. Sisteme potansiyel enzim olarak yerleşir.

MMP-14; MMP-2, MMP-8 ve MMP-13'ü aktive eder. Tablodaki kahve rengi çubuklar kollajen fibrilleri işaret eder.

Oksidatif yolak MMP aktivasyonunda esastır. "ROS" reaktif oksijen türleri MMP'leri direkt enzim oksidasyonuyla etkiler (36).

Bakteriler ve virülans faktörleri, sitokinler, prostaglandinler nötrofillerden degranülasyona sebep olurken granüllerden myeloperoksidaz (MPO) enzimi açığa çıkar.



Şekil 4 ROS Üretimi

Hidroksil (OH^-) iyonunu hipoklorik asite dönüştüren MPO, hipoklorik asiti ortaya çıkardıktan sonra proMMP-8 ve proMMP-9 indüklenir, TIMP-1 inaktif olur (37-39).

Hücre kültür çalışmalarında fibroblastlarda ve tümöral hücrelerde MMP-2, MMP-9 ve MMP-13'ün oksidatif stres ile aynı yoldan aktifleştiği bulunmuştur.

Aynı zamanda ROS düşük konsantrasyonlarda ise transkripsiyon faktörlerini aktive eden redoks duyarlı sisteinlerin varlığıyla hücre sinyallerinin üretiminde rol oynar (34). Bunlar Nüklear faktör kappa B (NFκB) ve Ca2+ hücre membran kanalları üzerinden çalışır. Düşük doz peroksit stimülasyonu ile fibroblastlarda MMP-2, MMP-9 aktivasyonu artar. Ters etkide ise NFκB inhibitörleri bakterilerce indüklenen MMP-2'yi bloke ederek çalışır. Toksik olmayan düşük H_2O_2 dozlarında da hücre içinde oksidatif mekanizma ile indüklenen sinyallerin oluştuğu MMP'leri aktive ettiği belirtilmiştir (34).

Transkripsiyondan biyolojik fonksiyonların proteolitik modülasyonuna kadar her seviyede karşılıklı düzenleyici özelliklere sahip sitokinler ve MMP'ler arasında derin

etkileşimler vardır (34). Bu ilişki gen düzeyinde de devam etmektedir. Genetik çalışmalara ihtiyacı arttırmıştır.

Periodontitis hastalığı ile ilişkisi değerlendirildiğinde MMP'ler kök yüzeyine bağlanan kollajen liflerin yıkımından sorumludur, sonucunda cep epitelinin apikale göçüne ve lateral yöne uzamasına izin verir. Bu yıkımın klinik yansıması klinik ataşman kaybı ve periodontal ceplerin oluşumudur.

Matriks metalloproteinazların periodontal dokuların yıkımındaki rolü oldukça etkilidir. Üzerinde uzun süreli çalışmalar yapılan diş eti oluğu sıvısında, tükürükte, diş eti dokularında hastalık durumunda MMP artışı bulunmuştur.

DOS'taki sıvının ve içindeki moleküllerin artışları periodontal hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle lökosit tip kollajenaz olan MMP-8 ve jelatinaz olan MMP-9 anlamlı bulunmuştur (40-43). DOS'taki MMP artışları infiltre PMN'lerden olduğu gibi yerleşik hücreler olan fibroblast, epitel hücreleri ve makrofajlardan da kaynak alındığı düşünülmektedir (44-46).

Periodontal ligament ve dişeti fibroblastlarının yanı sıra keratinositler, endotel hücreleri, osteoblastlar ve hatta osteoklastlar gibi periodontal lezyon hücrelerinde matriks metaloproteinazların haberci RNA'larının varlığı, bu hücreler tarafından matriks metaloproteinazların üretiminin olduğu hücre kültürü sistemleri kullanılarak öğrenilmiştir (25, 47).

PMN tip MMP'ler oksidatif olduğu gibi fibroblast tipi MMP'ler de proteolitik özellik göstererek farklı işleyişleri vardır. Ancak özellikle MMP-8 ile yapılan son dönemlerdeki hücre kültür çalışmaları göstermiştir ki yıkıcı tipte olan MMP'ler sadece PMN'lerden kaynak almazlar fibroblastların lipopolisakkarit ,IL-1b, TNF-α gibi sitokinlere maruz kalmasıyla kollajen yıkımını üreten fenotipte MMP üretimi için genlerin açılmasına sebep olduğu tespit edilmiştir (26, 48). Fibroblast gibi mezenşimal hücrelerde de aynı etki bulunmuştur. Ana hücre tipi periodontal yıkımda polimorfonükleer lökositler, fibroblastlar, kerotinositler, makrofajlar, epitelyal hücrelerdir.

Periopatojenler ve makrofajlar tarafından uyarılan nötrofillerin enflamatuar bölgelere göçü, proinflamatuar mediatörlerin konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır. Salgılanan sitokinler, diğer biyoaktif molekülleri üretmek için sabit hücreleri art arda tetiklemektedirler. Matriks metalloproteinazlar için ana uyarıcı sitokinler TNF-α, interlökin-1 ve interlökin-6'dır (26). Aktif matriks metalloproteinazların, karşılıklı aktivasyon yolağında diğer matriks metaloproteinazları aktive edebildiği de bilinmektedir. İn vitro olarak uyarılan PMN lökositleri, uyarandan birkaç saniye sonra hücre içi granüllerden MMP-8 ve MMP-9 salgılamaktadır (24).

Örneğin, interlökin-1β ve TNF-α, diş eti fibroblastlarından MMP-3, MMP-8 ve MMP-9'un salgılanmasını ve osteoblastlardan MMP-13'ün salgılanmasını uyarabilir (26). TGF- β1, MMP-1, MMP-3 ve MMP-8 genlerinin transkripsiyonunu bastırır, ancak esas olarak keratinositlerde MMP-2 ve MMP-13'ü indükler (26).

Kemik yıkım metabolizmasında osteoblastlar ve osteoklastlar da MMP üretip salgılamaktadırlar. Kemik yıkımında öncelikle osteoblastlar mineralize olmayan organik matriksi (osteoid) ortadan kaldırmasına yarayan kollejenazların salgılanması elzemdir. Sonrasonda osteoklastlar rezorpsiyon alanına çekilip ortamın asiditesini arttırır geriye kalan mineralize ve organik matriks artıklarını ortadan kaldırılmasına yarayan enzimleri salgılar. Kemik yıkımında nötral proteinazlardan olan MMP-9'ların bulunduğu çalışmalarda gösterilmiştir.

İlerleyen yıllarda ataşman kaybı seviyesinin değişimini öngörmek ve tedaviye yanıtı belirlemek ve için kollejanaz ve jelatinazların ölçümlerinden yararlanılması olasıdır (41).

MMP'lerin birbirileriyle, aktivatörlerle, inhibitörlerle, proenzimlerle, substratlarla bir ağ ile etkileşimde olması "*protease web*" tasarımı olarak adlandırılmıştır. MMP'ler bu tasarımla hücre proliferasyonunu, yapışmayı, göçü, büyüme faktörü biyoyararlanımını, kemotaksisi ve sinyallemeyi düzenler. Tasarım anjiyogenez, vazodilatasyon, metastaz, bağışıklık, inflamasyon ve yara iyileşmesi mekanizmaları için çok önemlidir (34).

PERİODONTAL HASTALIKLARDA GENETİĞİN ROLÜ

Periodontitis, birçok kronik hastalık gibi genetik ve çevresel faktörlerin etkileşiminin rol oynadığı kompleks hastalıklar sınıfındadır (49, 50). Sigara, oral hijyen ve diyet gibi faktörlerin kümülatif sonucu olarak doğan, çevre ve yaşam tarzından etkilenen poligenik, multifaktöriyel bir hastalıktır. Hassasiyet genleri ve yatkınlık genleri hastalığın hassasiyetini arttıran, bu hastalığa eğilimli olup olmadığını belirleyen genlerdir (51). Hücresel ya da hümoral immün cevaptaki değişiklikleri etkileyen gen grubundaki farklılık kişinin hastalığa yönelik bireysel eğilimini belirleyebilir.

Sendromların temelindeki belli gen mutasyonlarında periodontal hastalıklar gözlense de bu oldukça nadirdir. Bunlar; Down Sendromu, Papillon Lefevre, Chediak Higashi, Tip 1 Lökosit adhezyon yetmezliği gibi hastalıklardır.

Periodontitis hastalığındaki gibi sıklıkla gözlenen kompleks hastalıklarda etkili olan genetik faktörler bir mutasyondansa gen ürününün miktarının, fonksiyonunun ve

düzenlenmesindeki değişkenlerle ilişkide olan çoklu gen lokuslarındaki varyasyonlardan etkilenir (52, 53).

Genom canlının tüm kalıtsal bilgilerini ifade eder. Tek bir hücrenin taşıdığı DNA'nın tüm genlerini ve diğer gen olmayan kısımlarını belirtmektedir.

Genotip ise ifade edilen özelliklerinden veya fenotipinden farklı olarak organizmanın veya hücrenin genetik yapısını belirten alleler kümesidir.

Gen polimorfizmlerinin bir türü nükleotit ilavesi *'insertion'* ya da silinmesi *'deletion'* şeklinde oluşmaktadır. İlave ya da silinme tek bir bazı kapsayabileceği gibi birkaç baz, bir veya daha fazla ekzon, hatta tüm gende gerçekleşebilmektedir (54). Bir başka gen polimorfizmi türü ise basit sekans tekrarlarıdır. Bu tür polimorfizmler çoğunlukla iki veya üç nükleotit tekrarı ile oluşmaktadır (55). Polimorfizm türleri arasında en yaygın görüleni ise tek bir baz ikilisinin değişimine bağlı olarak gerçekleşen tek nükleotit polimorfizmleridir(56). Polimorfizmler bir ya da daha fazla alanda meydana gelmektedir.

1. Promotor bölge (5'-ucu bölgesi)
2. Ekzonlar
3. İntronlar
4. Kodlanmayan bölge (3'-ucu bölgesi) (59).

TNP tek bir nükleotidin değişmesinin sebebinde ortaya çıkan genetik polimorfizm türüdür. Her 100 ile 1000 baz çiftinde silme, ekleme ve değiştirme işlemlerinin bir sonucu olarak çok sık TNP görülür. İnsan genomunda 10 milyardan fazla TNP olduğu düşünülmektedir. Birçoğunun kodlanmış proteinde bir etkisi olmasa da bazıları üretilen proteinin işlevini etkiler. Bir TNP çok nadir bir mutasyon olarak ortaya çıkar ancak en az toplumda %1 inde meydana gelmesi ile kabul görür (57).

Bir genin aday gen olabilmesi için hastalığın varlığı ya da şiddetiyle ilişkilendirilmelidir (58). Hastalığın klinik tablosunu değiştirip değiştirmediği önemlidir. Bugüne kadarki en güçlü aday genler antikor etkinliğinden yola çıkılarak, PMNL fonksiyonunun ve iltihabi durumların ilişkili olduğu sistematik çalışmalarda gözlenmiştir (59, 60).

Genetik polimorfizmler ekspresyonu, protein yapımını ve sitokin salınımını etkilemektedir. Birçok gözlemsel çalışmada özellikle IL-1 üzerinde yoğunlaşılmıştır.

Bir hastalığın polimorfizm ile birlikte görülebilmesi için, polimorfizmin genetik olarak oluşturulan üründe (protein yapısında) bir bozukluk yaratıyor olması; popülasyona hakim bir porlimorfizm olduğunu kanıtlayabilmek için ise dahil edilen bireylerin sayılarının çok olması ve bu bireylerin bu popülasyondan olduğundan emin olunması gerekmektedir. Ayrıca doğru tanımlanmış olması, dış etkenler olarak sosyoekonomik seviyenin benzer tutulması ve

polimorfizm görülen gen kodlamasındaki çıkan protein yapıdaki ürünün araştırılan konuda hakim olan bir molekül olması gerekmektedir (61).

IL-1, IL-6, Fcγ reseptörleri, TNFα,vitamin D reseptör (VDR), CD14, MMP-1 genler büyük çaplı çalışmalarda değerlendirilmiş ve ilişkilendirilmiştir.

IL-1 geni ile agresif periodontitis hastalığı için Türk popülasyonundan ilişkilendirildiği çalışmalar mevcuttur (62, 63).IL-1β Çin popülasyonuyla da ilişkilendirildiği çalışmalar mevcuttur.IL-1β geni için çalışmalar tarandığında 4 farklı popülasyonda periodontitisle ilişkilendirilmesi ve benzerlik dikkat çekmektedir (64). 2019 yılındaki IL-1 ile ilişkili derlemede meta analizlerde IL-1A gen bölgeleri periodontitis ilişkisini kabul ediyorken, IL-1B bir gen bölgesi ilişkilendirilmişken iki gen bölgesi için ilgili olmadığı belirtilmiştir (65).

IL-6 gibi konak cevabının merkez rolünü oynayan gendeki taramalarda promotor bölgedeki TNP'ler ile periodontitis ilişkisi bulunmuştur (66). TNFα, kemik metabolizmasındaki rolünün önemli olduğu savunulan VDR, ileri düzeyli kayıp görülen kronik periodontitis ile ilişkilendirilmiştir.MMP-1gibi en çok bakılan TNP incelendiğinde promotor alanın ilişkili olduğu düşünülmektedir (64).

Türk popülasyonuna bakıldığında MMP-8 (67), Myeloperoksidaz (68), renin-anjiotensin geni (69, 70), MMP-1 (71), MMP-9 (72-74), doku plazminojen inhibitör geni (PAI-1) (75), doku plazminojen aktivatör (tPA) (76), nitrik oksit sentataz geni (eNOS) (77), transforme edici büyüme faktör beta 1 (TGF-β1) (78) genlerinde yapılan çalışmalar periodontitis ile ilişkilendirilmiştir.

MMP'lerde yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde gen bölgelerinin sistematik derlemelerde ilişkili bulunduğu belirtilmiştir (79, 80).

GEREÇ VE YÖNTEM

HASTA SEÇİMİ

Bu çalışmada yer alan bireyler, Trakya Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Kliniği'ne periodontal şikayetlerle başvuran, klinik ve radyografik muayeneleri sonucunda periodontitis teşhisi koyulmuş ve sağlıklı periodontal duruma sahip olan olan gönüllüler arasından seçilmiştir. Gönüllülerin detaylı sistemik ve dental anamnezleri alınmıştır. Sigara alışkanlıkları olup olmadığı kaydedilmiştir. Çalışma öncesinde, çalışmaya dahil edilecek olan tüm bireylere çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında ayrıntılı bilgi verildi, bireylerin katılımı için onayları bilgilendirilmiş gönüllü olur formu ile alındı (EK-1). Çalışmanın protokolü, Edirne Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 12.07.2021 tarihli toplantıda değerlendirildi ve TÜTF-BAEK 2020/223 protokol kodu ile kabul edildi (EK-2).

ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran, klinik ve radyolojik olarak "Periodontitis" teşhisi konmuş, 100 hasta ve sağlıklı gruptaki 100 gönüllü ile yürütüldü. Çalışmaya uygun olan hastaların periodontitis tanısı, Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin raporundaki faktörlere dikkat edilerek konuldu (3, 7).

Çalışmaya dahil edilen hasta grubunun gönüllülerinin kriterleri:

1. Ağızda 10 dişin mevcut bulunması,
2. Her kadranda en az 1 adet olmak üzere en az 4 dişinde sondlanabilir cep derinliği ≥5mm ve klinik ataşman kaybı ≥3mm üzerinde olması,

3. 25 yaşın üzerinde olması

4. Kronik periodontitis tanısı olması

5. Kronik periodontitis tanısı gereği dişlerin en az %30'unda 3mm'den fazla klinik ataşman kaybı ile seyretmesi

6. Radyolojik bulgularında en az iki yarım çenede kemik kaybı olması

7. Hamilelik ve emzirme olmamasıdır.

Sağlıklı gönüllülerin kriterleri:

1. Bireyin periodontal durumunu etkileyen diyabet benzeri sistemik hastalıklarının olmaması, MMP gen polimorfizmiyle ilişkilendirilen kanser, solunum yolu hastalıklarının, kalp damar hastalıklarının olmaması, HIV,hepatit gibi bulaşıcı hastalık taşımaması,

2. 10 ve daha fazla diş bulunması ve kaybedilen dişlerin periodontal sebep dışında kaybı olması,

3. Sondlanabilir periodontal cep derinliğinin ağızın %90'ında 3mm ve 3mm'nin altında olması,

4. Son 6 ay içinde antibiyotik tedavisi görmemiş olması,

5. Travmatik sebepli diş eti çekilmeleri, servikal alandaki çürükler, taşkın restorasyonlar, endodontik sebepli lezyonların sinüs yolları, malpozisyonlar, kök kırıkları gibi periodontitis ile ilişkili olmayan durumlar haricinde 1mm'yi geçen klinik ataşman kaybı olmaması,

6. Hamilelik ve emzirme olmamasıdır.

PERİODONTAL ÖLÇÜMLER

Tanı konulabilmesi için inflamasyonu değerlendiren belirli kriterler gerekmektedir.

Gingival İndeks (GI)

Gingival indeks almak için hastanın muayenesinde eğer gözle görülür belirti yok ise 0, renk ve dokuda hafif değişim var ise 1, bir periodontal sond ile diş eti kenarlarından gezdirildikten sonra diş etinde kanamaya eğilim 2 olarak skorlanırken spontan kanama eğilimi ve belirgin inflamasyon, püy 3 olarak belirtilir.

Plak İndeksi (PI)

Plak indeksi için plağın olmaması 0, gingival kenar boyunca periodontal sondlama ile görülen plak 1,gözle görülür plak 2, yoğun plak varlığı ise 3 olarak belirtilir (81).

Sondlamada Kanama (SK)

Sondlamadan sonra kanama olması ülsere cep epiteline komşu bir infiltran varlığıyla belirgindir. Subgingival inflamasyonun gözle görülür ilk belirtisidir. 15 sn içinde ortaya çıkan kanamalı durumlara 1 skoru verilir (82).

Sondlanabilir Cep Derinliği (SCD)

Periodontal doku destek kaybı sondlama cep derinliği ile belirlenir. Ortalama bir sondlama kuvvetiyle cep derinliğine sokulan sondun apikal ucundan diş eti kenarına olan mesafe ölçümü verir (83).

Klinik Ataşman Kaybı (KAK)

Klinik ataşman kaybı ya da seviyesi dişin mine-sement sınırından sondun ucuna kadar olan mesafeyi verir.

Klinik indeks ölçümleri çalışmanın tükürük örneği toplanan günlerinde, araştırmayı yürütecek hekim tarafından, manuel periodontal sond (Williams sondu, Hu-Friedy®; Chicago, Illinois, Amerika Birleşik Devletleri) ile 20 yaş dişleri dahil edilmeden tüm dişin 6 ayrı bölgesinden, bukkal ve lingual/palatinal yüzeylerin mezial, orta ve distal noktaları olmak üzere yapıldı. Çıkan bu değerlerin de ortalaması alınarak bireyin plak indeksi, gingival indeksi, sondlanabilir cep derinliği ve klinik ataşman seviyesi skorları elde edildi. Sondalamada kanama değerleri ise +/- olarak ölçüldü. Tüm bu ölçümler, hastaya özel oluşturulan formlarına kaydedildi. Bu formlara 2017 sınıflamasına uygun olarak belirlenen periodontitis hasta grubunun evrelendirilmesi de yapıldı. Aynı zamanda gönüllü her iki grubun öğrenim durumu, yaşı, cinsiyeti, fırçalama sıklığı, diş fırçası harici ara yüz temizliği yapıp yapmadığı, daha önce geçirdiği periodontal tedaviler de kaydedildi.

ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Tükürükten DNA izolasyonu belli prosedürler içermektedir. Öncelikle bunlar tükürüğün toplanması ve depolanması, hücrenin lizis denilen çözülme işlemi, proteinin çöktürülme işlemi, etonol uygulanması, suyun DNA'ya tekrar geri kazandırılmasıdır (rehidrasyonu).

Tükürüğün toplanması için hastanın ağzında hiçbir şekilde yemek veya macun artığı gibi süreci bozacak hiçbir şey olmaması için öncesinde hastanın ağzını serum fizyolojik ile 2 dakika boyunca çalkalaması sağlandı. Aynı zamanda hasta 30 dakika öncesine kadar hiçbir şey

yememiş ve içmemiş olduğu tespit edildi. Kendisi açarak 2.5 ‘ml kısmı DNA solüsyonu olan 15ml falkon tüpe 2.5 ml kadar 10 dakika boyunca tükürmesi sağlandı. Kendisi tüpü kapattıktan sonra birkaç kere elde çevrilecek ve tam anlamıyla solüsyonların karışması sağlandı. Solüsyonun tamamen karışması sağlanıp örnekler -20 °C ‘de saklanarak sonraki aşamaya hazır hale getirildi. Bu aşamadaki tükürük toplanan tüplere eklenen maddeler her 50 ml solüsyonda şunlardır(84):

- 0,3 NaCl 0,5ml TRİS 1 mol
- 1ml 0,5 mol EDTA
- 2,5 ml SDS % 10
- 0,6 ml Proteinaz K

DNA Stabilization Buffer (250 ml)		
Component	Volume (ml)	[Final]
1 M NaCl	1.461 g	0.1 M
Tris HCl	2.5	0.01 M
0.5M EDTA	5	0.01 M
10% SDS	12.5	0.014 M
Proteinase K Solution (20 mg/ml)	2.5	$6.92x10^{-6}$ M
ddH_2O	227.5	

Şekil 5.DNA Stabilizasyon Solüsyonu İçeriği(84)

DNA İZOLASYON AŞAMASI

DNA izolasyonu işlemi *lysates* (lizis) kitinin hazırlanması aşamasıyla başladı. Kan örneğinden yapılan izolasyon ile aynı işlem basamaklarını içermektedir.

200 µl tükürük örneği eklediğimiz ependorf tüplerine 20 µl proteinaz K ve 20 µl RNase A eklendi sonrasında vortex ile karıştırılarak 2 dakika 55 °C ‘de inkübasyona bırakıldı.

200 µl purelink solüsyonun genomik lizis solüsyonu eklendi, vortekslenerek 55°C derecede 10 dk inkübasyon için yetiştirmeye bırakıldı bunun amacı protein yıkımını başlatmaktır. Sonrasında 200 µl ethanol eklendi. Koleksiyon tüplerine solüsyonlar aktarıldı.

10 000 × g’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Tüpün üstünde kalan parça kolon yeni koleksiyon tüpüne eklendi. Bu aşamaya *binding DNA* ismi verilmektedir.

DNA’yı yıkama aşamasında 500 µl yıkama solüsyonunu eklendi ve 10 000× g’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Koleksiyon tüpüne aktarım yapıldı.

500 µl yıkama solüsyonu 2 eklenerek maksimum hızda 3 dakika santrifüj yapıldı ve ayrıştırma (*elution*) işlemine geçildi.

Kolonlar 1.5mililitrelik mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi. Ayrıştma (*elution*) solüsyonu eklendi ve 1 dakika oda ısısında beklendikten sonra maksimum hızda 1 dakika santrifüj yapıldı.

Tüpün içinde kalan saflaştırılmış genomik DNA elde edildi. Kesim aşamasına kadar -70 °C de saklandı.

Tablo 5. A PZR Master Miks İçeriği B) PZR Amflikasyon Program C) PZR Ürünlerinin Kesim Protokolü(84)

Component	Volume (µL)	Final concentration
10x PCR buffer Tween-20 (15 M $MgCl_2$)	0.25	1.5 $MgCl_2$ mmol/L
dNTP mix (10 mM)	1	200 µM
Primer (forward)(10 pmol/µM)	1	0.4 µM/µL
Primer (reverse)(10 pmol/µM)	1	0.4 µM/µL
Taq polymerase (5 U/µL)	0.2	1 U/µL
Sample DNA (42 ng/µL)	1	42 ng/µL
DNase-free-water	20.55	
Total	25	

A

Standard PCR			
Initial activating step	5 min		95 °C
3-step cycling			
Denaturation	30 s		94 °C
Annealing	60 s		55 °C
Extension	60 s		72 °C
Number of cycles		30 cycles	
Final extension	8 min		72 °C

B

Component	Volume (µL) (n = 1)	Volume (µL) (n = 10)*
10x enzyme buffer	2.5	27.5
Restriction enzyme (5 U/µL)	0.5	5.5
DNase-free-water	19.5	214.5
Total	22.5	247.5

C

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR)

PZR; DNA'nın invitro olarak çoğaltılmasını sağlayan bir araçtır. PCR yönteminin gerçekleştirilmesi için gerekli olan bileşenler; hedef DNA, aranan gene özgü primerler, Taq DNA polimeraz enzimi, deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP), Mg+2 tamponu ve DNA bulundurmayan sudur. Bu yöntem, çift zincirli DNA'nın yüksek ısılarda ayrışarak tek sarmala dönmesi, primer olarak ortama eklenen iki oligonükleotidin hedef DNA'ya bağlanması, Mg+2 iyonları ile birlikte kullanılınca katalize olan Taq DNA polimeraz sayesinde primerlere

nükleotid bağlanması ve DNA'nın uzaması yönteminin çok kere tekrar edilmesini prensip almaktadır (85).

Öncesinde elde ettiğimiz DNA içeren tüplere

- MgCl2
- PZR Tamponu
- primer
- dNTP
- Taq polimeraz
- dH2O konularak ile 24 µl'e tamamlandı

1 µl izole edilmiş DNA eklendi Toplam hacim: 25 µl

Solüsyonlar eklenerek reaksiyon başlatılmasına uygun gerekenler sağlandı. Kullanılan cihaz Exicycler™ 96 Real-Time Quantitative Thermal Block'tur.

Öncelikle DNA denatüre edildi, sarmal yapı bozularak zincir açıldı. Eklenen primerlerin bağlanması sonrasında istenilen DNA sentezi bölgesinin çoğaltılmasıyla 3 aşama tamamlandı.

PZR aşamaları Thermo Scientific™ PCR Master Mix (2X) kiti ile yapıldı primer ve distile su eklendi. 57°C 'de çalışıldı. Süreç önce 95°C ile başladı 57°C ve 72°C ile devam etti, 40 siklus gerçekleştirildi. Yaklaşık 2 saatte tamamlandı.

RESTRİKSİYON ENZİM KESİMİ YÖNTEMİ

Dizilerinin tanıyarak çift taraflı simetrik olarak kesen, bakteri ve virüs gibi canlılardan temin edilen enzimlere kesim enzimleri adı verilir.

PZR aşamasından sonra MMP-9, MMP-8 veTIMP-1 gen bölgelerinin çoğaltılmasıyla kesim aşamasına geçildi. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile 37°C de 3 saat inkübasyon yapılarak kesime bırakıldı.

RFLP, parça uzunluk kesim polimorfizmi tekniği ile DNA'nın kesimi sonucunda bölgelere göre değişkenlik gösteren fragman sayısı, dizilişi ve oluşan parça uzunlukları jel elektroforezinde tespit edildi (86).

%3'lük agaroz jelde yürütülmelerinin ardından UV ışık altında incelenmeleri sonucunda polimorfizmler belirlendi.

- MMP-9 rs17576 Q279R Polimorfizmi için primer olarak;

(Forward) TCACCCTCCCGCACTCTGG

(Reverse) CGGTCGTAGTTGGCGGTGG

Restriksiyon enzimi olarak Smal kullanıldı.

- MMP-8 rs1940475 Lys87Glu Polimorfizmi için primer olarak;

(Forward) 5’TGGAAAGAACCCACGGTATC 3’
(Reverse) 5’ACAGCAAGACCCCTATGTGC 3'

Restriksiyon enzimi olarak BccI kullanıldı.

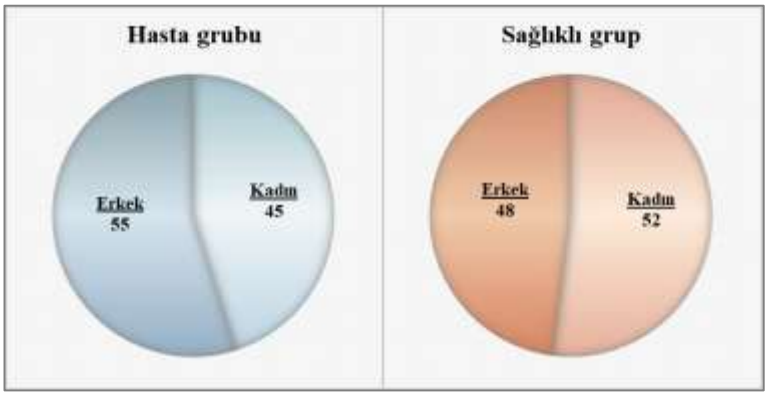
İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sürekli değişkenler için normallik koşulu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. İki grubun verileri Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı. İki kategorik değişken arasındaki ilişki Pearson'ın Ki-kare testi ve Fisher’ın Kesin testi ile incelendi. Veriler ortalama ve standart sapma (ss), medyan, çeyrekler açıklığı (ÇA), minimum ve maksimum değerleri ile kategorik değişkenler ise sıklık ve yüzde ile ifade edildi. Tüm analizler için istatistiksel yazılım SPSS version 23 (SPSS Inc., Armonk, NY) kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlendi.

BULGULAR

DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİN İNCELEMESİ

Çalışmada 100 hasta ve 100 sağlıklı olmak üzere toplamda 200 birey yer aldı. Sağlıklı bireylerin yaşları ortalaması 35,7±11,2 iken hasta bireylerde ortalama yaş 49,7±9,9 idi. Sağlıklı grup hasta grubuna göre daha genç bireylerden oluşmaktaydı (p<0,001). Hasta bireylerin 55'i, sağlıklı bireylerin 48'i erkekti. Gruplar cinsiyet açısından benzer özellikteydi (p=0,322).



Şekil 6. Bireylerin gruplara göre cinsiyet dağılımları

Hasta ve sağlıklı grubunda bulunan bireylerin genel özelliklerine ilişkin istatistikler Tablo 6'da yer almaktadır.

Tablo 6. Hasta ve sağlıklı bireylerin genel özellikleri

	Toplam n=200	**Sağlıklı** n=100	**Hasta** n=100	**p**
Sigara				
İçmiyor	92	55	37	0,011
İçiyor	108	45	63	
Öğrenim durumu				
İlkokul	39	7	32	<0,001
Ortaokul	9	3	6	
Lise	45	10	35	
Lisans	107	80	27	
Fırçalama				
Birden az	26	4	22	<0,001
Bir	52	13	39	
Birden çok	122	83	39	
Diş ipi				
Yok	99	25	74	<0,001
Var	101	75	26	
Önceki tedavi				
Yok	107	48	59	0,006
Ted	84	51	33	
Cer	9	1	8	

Bireyler sigara içme alışkanlıkları açısından ele alındığında, sağlıklı grupta bu oran %45 iken hasta grubunda %63 olduğu görüldü. Hasta grubunda sigara içme oranı anlamlı derecede daha yüksekti (p=0,011).

Öğrenim durumu ele alındığında, sağlıklı grupta lisans düzeyinde eğitimini tamamlayanların oranı %80 iken hasta grubunda bu oran %27 idi. Öğrenim durumu ilkokul olanların oranları ise sağlıklı grupta; %7, hasta grupta %32 idi. Yapılan incelemede, öğrenim durumu lisans olanlar açısından anlamlı fark olduğu ve sağlıklı grupta daha yüksek oranda lisans mezununun yer aldığı belirlendi (p<0,001).

Çalışma gruplarına göre bireylerin diş fırçalama alışkanlıkları incelendiğinde, sağlıklı grupta günde bir defadan fazla fırçalayanların oranı %83 olarak belirlenirken hasta grupta bu oran %39 idi. Yapılan incelemede, sağlıklı bireylerin hastalara göre anlamlı derecede daha fazla dişlerini günde bir defadan çok fırçaladıkları görüldü (p<0,001).

Diş ipi kullanımı açısından bireyler incelendiğinde, sağlıklı grubun %75'inin, hasta grubunun %26'sının diş ipi kullandığı görüldü. Sağlıklı bireylerde diş ipi kullanım oranı hastalara göre anlamlı derecede daha yüksekti ($p<0,001$).

Bireylerin önceki tedavileri ele alındığında, sağlıklı bireylerin %48'inin, hasta bireylerin %59'unun önceden tedavi görmedikleri, yine sağlıklı bireylerin %1'inde, hasta bireylerin %8'inde önceden cerrahi tedavinin uygulandığı görüldü. Yapılan incelemede, sağlıklı ve hasta grubu arasında cerrahi uygulama açısından anlamlı fark olduğu ve hasta grupta önceki tedavilerinde cerrahi uygulamaya daha sık rastlandığı saptandı ($p=0,006$).

KLİNİK PERİODONTAL DURUM

Hastaların klinik periodontal parametrelerine ait Sondlama cep derinliği (SCD), Gingival indeks (Gİ), Plak indeks (Pİ), Sondlamada kanama yüzdesi (SKY) ve Klinik ataşman seviyesi (KAS) değerlerinin kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırılmasından elde edilen sonuçlar Tablo 7'de gösterilmektedir.

Hastaların tüm klinik parametre değerlerinin kontrol ve hasta gruplarında anlamlı derecede farklı olduğu ve hasta grubunda daha yüksek değerler elde edildiği görüldü ($p<0,001$).

Kontrol grubunda SCD ortanca değeri 2,35 (0,5) mm olarak ölçülürken hasta grubunda 3,58 (1) mm değeri elde edildi. Ortanca GI değeri kontrol grubunda 1 (0,7) mm, hasta grubunda 1,92 (0,6) mm iken ortanca PI değerleri sırasıyla; 1 (0,5) mm, 1,71 (0,9) mm idi. SKY ortanca değeri kontrol grubunda %0,1 (0,2) iken hasta grubunda %1 (0,6) idi. KAS ortanca değerleri ise kontrol grubunda 0 mm olarak elde edilirken hasta grubunda kontrol grubuna göre 3,78 (1,5) mm daha yüksekti.

Tablo 7. Hasta ve sağlıklı bireylerin genel özellikleri

	Toplam n=200	**Sağlıklı** n=100	**Hasta** n=100	p
SCD (mm)				
Ortalama±ss	3±1	2,3±0,4	3,8±0,9	<0,001
Medyan (ÇA)	2,85 (1,2)	2,35 (0,5)	3,58 (1)	
Minimum-Maksimum	1,1-7,6	1,1-3,21	1,7-7,6	
GI (mm)				
Ortalama±ss	1,3±0,6	0,8±0,4	1,7±0,5	<0,001
Medyan (ÇA)	1,19 (0,9)	1 (0,7)	1,92 (0,6)	
Minimum-Maksimum	0-3	0-1,28	0,38-3	
PI (mm)				
Ortalama±ss	1,5±0,7	1,1±0,6	1,8±0,6	<0,001
Medyan (ÇA)	1,3 (1)	1 (0,5)	1,71 (0,9)	
Minimum-Maksimum	0,13-3	0,13-2,5	0,85-3	
SKY (%)				
Ortalama±ss	0,4±0,4	0,1±0,1	0,7±0,4	<0,001
Medyan (ÇA)	0,2 (0,9)	0,1 (0,2)	1 (0,6)	
Minimum-Maksimum	0-2	0-0,28	0-2	
KAS (mm)				
Ortalama±ss	1,8±2,1	0	3,6±1,5	<0,001
Medyan (ÇA)	0 (3,8)	0	3,78 (1,5)	
Minimum-Maksimum	0-7,01	0-0	0-7,01	

ss: Standart sapma, **ÇA:** Çeyrekler açıklığı; **SCD:** Sondlama cep derinliği, **GI:** Gingival indeks, **PI:** Plak indeks, **SKY:** Sondlamada kanama yüzdesi, **KAS:** Klinik ataşman seviyesi.

GENOTİP KARŞILAŞTIRMASI

MMP-8 Gen Polimorfizmi

Hasta ve sağlıklı bireylerde, MMP-8 CC, CT ve TT genotiplerinin karşılaştırmasından elde edilen bulgulara Tablo 8'te yer verildi.

Tablo 8. Gruplara göre MMP-8 genotipleri incelemesi

	Toplam n=200	**Sağlıklı** n=100	**Hasta** n=100	**p**
MMP-8				
CC	60	32	28	0,695
CT	110	52	58	
TT	30	16	14	

Sağlıklı bireylerin %32'sinde CC genotipi, %52'sinde CT genotipi ve %16'sında TT genotipi, hasta bireylerin ise %28'inde CC genotipi, %58'inde CT genotipi ve %14'ünde TT genotipi gözlendi. Yapılan incelemede, hasta ve sağlıklı bireylerde MMP-8 genotipleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,695).

Sigara içme alışkanlığına göre hasta ve sağlıklı bireylerde, MMP-8 CC, CT ve TT genotiplerinin karşılaştırmasından elde edilen bulgular Tablo 9'te gösterilmektedir.

Tablo 9. Sigara alışkanlıklarına göre gruplarda MMP-8 genotipleri incelemesi

	Sigara içmiyor				**Sigara içiyor**			
	Toplam n=92	**Sağlıklı** n=55	**Hasta** n=37	**p**	**Toplam** n=108	**Sağlıklı** n=45	**Hasta** n=63	**p**
MMP-8								
CC	23 (25)	16 (29,1)	7 (18,9)	0,060	37 (34,3)	16 (35,6)	21 (33,3)	0,443
CT	54 (58,7)	27 (49,1)	27 (73)		56 (51,9)	25 (55,6)	31 (49,2)	
TT	15 (16,3)	12 (21,8)	3 (8,1)		15 (13,9)	4 (8,9)	11 (17,5)	

Sigara içen sağlıklı bireylerin %35,6'sında CC genotipi, %55,6'sında CT genotipi ve %8,9'unda TT genotipi gözlenirken hasta bireylerin %33,3'ünde CC genotipi, %49,2'sinde CT genotipi ve %17,5'inde TT genotipi gözlendi. Yapılan incelemede, sigara içmeyen hasta ve sağlıklı bireylerde MMP-8 genotipleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,443).

Sigara içmeyen sağlıklı bireylerin %29,1'inde CC genotipi, %49,1'inde CT genotipi ve %21,8'inde TT genotipi tespit edilirken hasta bireylerin %18,9'unda CC genotipi, %73'ünde CT genotipi ve %8,1'inde TT genotipi gözlendi. Yapılan incelemede, sigara içen hasta ve sağlıklı bireylerde MMP-8 genotipleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,060).

MMP-9 Gen Polimorfizmi

MMP-9 AA, AG ve GG genotiplerinin, hasta ve sağlıklı bireylerde karşılaştırmasından elde edilen bulgulara Tablo 10'te yer verildi.

Tablo 10. Gruplarda MMP-9 genotipleri incelemesi

	Toplam n=200	**Sağlıklı** n=100	**Hasta** n=100	**p**
MMP-9				
AA	81	37	44	0,571
AG	95	51	44	
GG	24	12	12	

Sağlıklı bireylerin %37'sinde AA genotipi, %51'inde AG genotipi ve %12'sinde GG genotipi, hasta bireylerin ise %44'ünde AA genotipi, %44'ünde AG genotipi ve %12'sinde GG genotipi gözlendi. Yapılan incelemede, hasta ve sağlıklı bireylerde MMP-9 genotipleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,571).

Sigara içme alışkanlığına göre hasta ve sağlıklı bireylerde, MMP-9 AA, AG ve GG genotiplerinin karşılaştırmasından elde edilen bulgular Tablo 11'da gösterilmektedir.

Tablo 11. Sigara alışkanlıklarına göre gruplarda MMP-9 genotipleri incelemesi

	Sigara içmiyor				**Sigara içiyor**			
	Toplam n=92	**Sağlıklı** n=55	**Hasta** n=37	**p**	**Toplam** n=108	**Sağlıklı** n=45	**Hasta** n=63	**p**
MMP-9								
AA	35 (38)	21 (38,2)	14 (37,8)	0,888	46 (42,6)	16 (35,6)	30 (47,6)	0,456
AG	44 (47,8)	27 (49,1)	17 (45,9)		51 (47,2)	24 (53,3)	27 (42,9)	
GG	13 (14,1)	7 (12,7)	6 (16,2)		11 (10,2)	5 (11,1)	6 (9,5)	

Sigara içen sağlıklı bireylerin %35,6'sında AA genotipi, %53,3'ünde AG genotipi ve %11,1'inde GG genotipi gözlenirken hasta bireylerin %47,6'sında AA genotipi, %42,9'unda AG genotipi ve %9,5'inde GG genotipi gözlendi. Yapılan incelemede, sigara içmeyen hasta ve sağlıklı bireylerde MMP-9 genotipleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,456).

Sigara içmeyen sağlıklı bireylerin %38,2'sinde AA genotipi, %49,1'inde AG genotipi ve %12,7'sinde GG genotipi, hasta bireylerin ise %37,8'inde AA genotipi, %45,9'unda AG genotipi ve %16,2'sinde GG genotipi gözlendi. Yapılan incelemede, sigara içen hasta ve sağlıklı bireylerde MMP-9 genotipleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,888).

ALLEL KARŞILAŞTIRMASI

MMP-8 Gen Polimorfizmi

Çalışmada, toplam gözlenen MMP-8 genotip allellerinin 230 (%57,5)'u C alleli ve 170 (%42,5)'i T alleliydi. MMP-8 C ve T allellerinin, hasta ve sağlıklı bireylerde karşılaştırmasından elde edilen bulgulara Tablo 12'de yer verildi.

Tablo 12. C ve T allellerin sağlıklı ve hasta grubunda incelemesi

	Toplam n=400	**Sağlıklı** n=200	**Hasta** n=200	**p**
MMP-8				
C Alleli	230 (57,5)	116 (58)	114 (57)	0,840
T Alleli	170 (42,5)	84 (42)	86 (43)	

Sağlıklı bireylerde C alleli %58, T alleli %42 oranlarında görülürken hasta bireylerde bu oranlar sırasıyla; %57 ve %43 idi. Yapılan incelemede, hasta ve sağlıklı bireylerde gözlenen MMP-8 genotip allellerinin benzer oranlarda dağılım gösterdiği sonucuna ulaşıldı (p=0,840).

Sigara içme alışkanlığına göre hasta ve sağlıklı bireylerde, MMP-8 C ve T allellerinin karşılaştırmasından elde edilen bulgular Tablo 13'de gösterilmektedir.

Sigara içen sağlıklı bireylerde C alleli %63,3, T alleli %36,7 oranlarında gözlenirken hasta bireylerde bu oranlar sırasıyla; %57,9 ve %42,1 olarak elde edildi. Yapılan incelemede, sigara içmeyen hasta ve sağlıklı bireylerde MMP-13 allelerinin görülme oranları açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,424).

Tablo 13. Sigara içme alışkanlıklarına göre C ve T allellerin sağlıklı ve hasta grubunda incelemesi

	Sigara içiyor				**Sigara içmiyor**			
	Toplam n=184	**Sağlıklı** n=110	**Hasta** n=74	**p**	**Toplam** n=216	**Sağlıklı** n=90	**Hasta** n=126	**p**
MMP-8								
C Alleli	100(54,3)	59 (53,6)	41 (55,4)	0,813	130(60,2)	57 (63,3)	73 (57,9)	0,424
T Alleli	84 (45,7)	51 (46,4)	33 (44,6)		86 (39,8)	33 (36,7)	53 (42,1)	

Sigara içmeyen sağlıklı bireylerde C alleli %53,6, T alleli %46,4 oranlarında gözlenirken hasta bireylerde görülme oranları; C allelinin %55,4, T allelinin %44,6 idi. Gerçekleştirilen analizde, sigara içen hasta ve sağlıklı bireylerde gözlenen MMP-8 allelleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,813).

MMP-9 Gen Polimorfizmi

Çalışmada, toplam gözlenen MMP-9 genotip allellerinin 257 (%64,2)'si A alleli ve 143 (%35,8)'ü G alleliydi. MMP-9 A ve G allellerinin, hasta ve sağlıklı bireylerde karşılaştırmasından elde edilen bulgulara Tablo 13'de yer verildi.

Tablo 14. A ve G allellerin sağlıklı ve hasta grubunda incelemesi

	Toplam n=400	**Sağlıklı** n=200	**Hasta** n=200	**p**
MMP-9				
A Alleli	257 (64,2)	136 (68)	121 (60,5)	0,118
G Alleli	143 (35,8)	64 (32)	79 (39,5)	

Sağlıklı bireylerde A alleli %68, G alleli %32 oranlarında görülürken hasta bireylerde A alleli %60,5, G alleli %39,5 oranlarında gözlendi. Yapılan incelemede, hasta ve sağlıklı bireylerde gözlenen MMP-9 genotip allellerinin benzer oranlarda dağılım gösterdiği sonucuna ulaşıldı (p=0,118).

Sigara içme alışkanlığına göre hasta ve sağlıklı bireylerde, MMP-9 C ve T allellerinin karşılaştırmasından elde edilen bulgular Tablo 15'de gösterilmektedir.

Tablo 15. Sigara içme alışkanlıklarına göre A ve G allellerin sağlıklı ve hasta grubunda incelemesi

	Sigara içmiyor				**Sigara içiyor**			
	Toplam n=184	**Sağlıklı** n=110	**Hasta** n=74	**p**	**Toplam** n=216	**Sağlıklı** n=90	**Hasta** n=126	**p**
MMP-9								
A Alleli	112(60,9)	69 (62,7)	43 (58,1)	0,529	145(67,1)	57 (63,3)	88 (69,8)	0,315
G Alleli	72 (39,1)	41 (37,3)	31 (41,9)		71 (32,9)	33 (36,7)	38 (30,2)	

Sigara içen sağlıklı bireylerde A alleli %63,3, G alleli %36,7 oranlarında gözlenirken hasta bireylerde bu oranlar sırasıyla; %69,8 ve %30,2 olarak elde edildi. Yapılan incelemede,

sigara içmeyen hasta ve sağlıklı bireylerde MMP-9 allelerinin görülme oranları açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,315).

Sigara içmeyen sağlıklı bireylerde A alleli %62,7, G alleli %37,3 oranlarında gözlenirken hasta bireylerde görülme oranları; A allelinin %58,1, G allelinin %41,9 idi. Gerçekleştirilen analizde, sigara içen hasta ve sağlıklı bireylerde gözlenen MMP-9 allelleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,529).

HASTALARDA GENOTİP VE EVRE KARŞILAŞTIRMASI

Çalışmada yer alan hastaların %40'ı Evre I-II, geri kalan %60'ı Evre III-IV periodontitisli hastaydı.

MMP-8 Gen Polimorfizmi Ve Evrelerin Karşılaştırması

Hastalarda, MMP-8 CC, CT ve TT genotipleri Evre I-II ve Evre III-IV grupları açısından karşılaştırıldı. Elde edilen bulgulara Tablo 16'de yer verildi.

Tablo 16. CC, CT ve TT genotiplerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında incelemesi

	Toplam n=100	**Evre I-II** n=40	**Evre III-IV** n=60	**p**
MMP-8				
CC	28 (28)	11 (27,5)	17 (28,3)	0,972
CT	58 (58)	23 (57,5)	35 (58,3)	
TT	14 (14)	6 (15)	8 (13,3)	

Çalışmada, CC, CT ve TT genotipleri sırasıyla, Evre I-II periodontitis hastalarında; %27,5, %57,5 ve %15, Evre III-IV periodontitis hastalarında; %28,3, %58,3, %13,3 oranlarında gözlendi. Yapılan incelemede, MMP-8 genotipleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,972).

Sigara içme alışkanlığına göre Evre I-II ve Evre III-IV periodontitis hastalarında, MMP-8 CC, CT ve TT genotiplerinin incelemesinden elde edilen bulgular Tablo 17'de gösterilmektedir.

Tablo 17. Sigara içme alışkanlığına göre CC, CT ve TT genotiplerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında incelemesi

	Sigara içmiyor				Sigara içiyor			
	Toplam n=37	**Evre I-II** n=22	**Evre III-IV** n=15	**p**	**Toplam** n=63	**Evre I-II** n=18	**Evre III-IV** n=45	**p**
MMP-8								
CC	7 (18,9)	6 (27,3)	1 (6,7)	0,294	21 (33,3)	5 (27,8)	16 (35,6)	0,754
CT	27 (73)	14 (63,6)	13 (86,6)		31 (49,2)	9 (50)	22 (48,9)	
TT	3 (8,1)	2 (9,1)	1 (6,7)		11 (17,5)	4 (22,2)	7 (15,5)	

Sigara içen Evre I-II periodontitisli hastaların %27,8'inde CC genotipi, %50'sinde CT genotipi ve %22,2'sinde TT genotipi gözlenirken Evre III-IV periodontitisli hastaların %35,6'sında CC genotipi, %48,9'unda CT genotipi ve %15,5'inde TT genotipi gözlendi. Yapılan incelemede, sigara içmeyen hastalarda MMP-8 genotipleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,754).

Sigara içmeyen Evre I-II periodontitisli hastaların %27,3'ünde CC genotipi, %63,6'sında CT genotipi ve %9,1'inde TT genotipi tespit edilirken Evre III-IV periodontitisli hastaların %6,7'sinde CC genotipi, %86,6'sında CT genotipi ve %6,7'sinde TT genotipi gözlendi. Yapılan analizde, sigara içen hastalarda MMP-8 genotipleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,294).

MMP-9 Gen Polimorfizmi Ve Evrelerin Karşılaştırması

MMP-9 AA, AG ve GG genotiplerinin, Evre I-II ve Evre III-IV grupları açısından karşılaştırıldı. Elde edilen bulgulara Tablo 18'te yer verildi.

Tablo 18. AA, AG ve GG genotiplerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında incelemesi

	Toplam n=100	**Evre I-II** n=40	**Evre III-IV** n=60	**p**
MMP-9				
AA	44 (44)	17 (42,5)	27 (45)	0,969
AG	44 (44)	18 (45)	26 (43,3)	
GG	12 (12)	5 (12,5)	7 (11,7)	

MMP-9 AA, AG, GG genotipleri sırasıyla, Evre I-II periodontitis hastalarında; %42,5, %45 ve %12,5, Evre III-IV periodontitis hastalarında; %45, %43,3, %11,7 oranlarında

gözlendi. Yapılan incelemede, MMP-9 genotipleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,969).

Sigara içme alışkanlığına göre Evre I-II ve Evre III-IV periodontitis hastalarında, MMP-9 AA, AG ve GG genotiplerinin incelemesinden elde edilen bulgular Tablo 19'te gösterilmektedir.

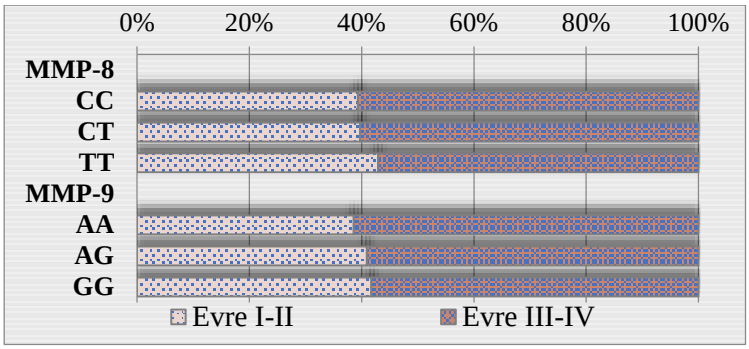
Tablo 19. Sigara içme alışkanlığına göre AA, AG ve GG genotiplerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında incelemesi

	Sigara içmiyor				Sigara içiyor			
	Toplam n=37	**Evre I-II** n=22	**Evre III-IV** n=15	**p**	**Toplam** n=63	**Evre I-II** n=18	**Evre III-IV** n=45	**p**
MMP-9								
AA	14 (37,8)	8 (36,4)	6 (40)	1,000	30 (47,6)	9 (50)	21 (46,7)	0,925
AG	17 (45,9)	10 (45,5)	7 (46,7)		27 (42,9)	8 (44,4)	19 (42,2)	
GG	6 (16,2)	4 (18,2)	2 (13,3)		6 (9,5)	1 (5,6)	5 (11,1)	

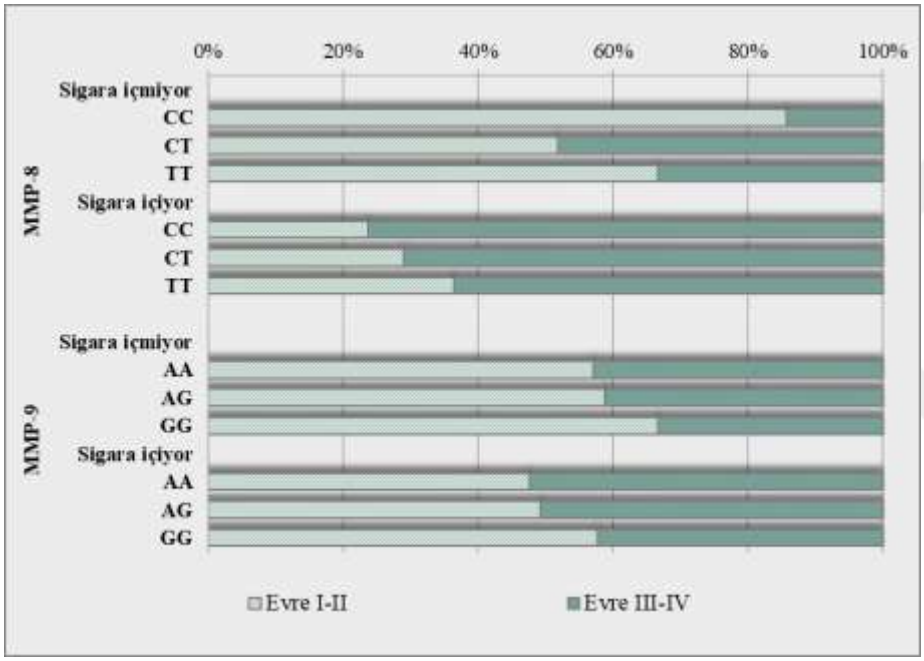
Sigara içen Evre I-II periodontitisli hastaların %50'sinde AA genotipi, %44,4'ünde AG genotipi ve %5,6'sında GG genotipi gözlenirken Evre III-IV periodontitisli hastaların %46,7'sinde AA genotipi, %42,2'sinde AG genotipi ve %11,1'inde GG genotipi gözlendi. Yapılan incelemede, sigara içmeyen hastalarda MMP-9 genotipleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki saptanmadı (p=1,000).

Sigara içmeyen Evre I-II periodontitis hastalarından %36,4'ünde AA genotipi, %45,5'inde AG genotipi ve %18,2'sinde GG genotipi, Evre III-IV periodontitis hastalarından ise %40'ında AA genotipi, %46,7'sinde AG genotipi ve %13,3'ünde GG genotipi gözlendi. Yapılan analizde, sigara içen hastalarda MMP-9 genotipleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,925).

Şekil 7'de MMP-8 ve MMP-9 genotiplerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarına göre oransal dağılımları gösterilmektedir. Şekil 8'de ise hastaların sigara içme alışkanlığına göre ele alınan MMP-8 ve MMP-9 genotiplerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında oransal dağılımları gösterilmektedir.



Şekil 7. MMP-8 ve MMP-9 genotiplerinin oransal dağılımları



Şekil 8. MMP-8 ve MMP-9 genotiplerinin sigara içme alışkanlığına göre oransal dağılımları

HASTALARDA ALLEL VE EVRE KARŞILAŞTIRMASI

MMP-8 Gen Polimorfizmi Ve Evrelerin Karşılaştırması

Hastalarda, MMP-8 C ve T allelleri Evre I-II ve Evre III-IV grupları açısından karşılaştırıldı. Elde edilen bulgulara Tablo 20'te yer verildi.

Tablo 20. C ve T allellerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında incelemesi

	Toplam n=200	**Evre I-II** n=80	**Evre III-IV** n=120	**p**
MMP-8				
C Alleli	114 (57)	45 (56,3)	69 (57,5)	0,861
T Alleli	86 (43)	35 (43,7)	51 (42,5)	

Çalışmada, C ve T allelleri sırasıyla, Evre I-II periodontitis hastalarında; %56,3 ve %43,7, Evre III-IV periodontitis hastalarında; %57,5 ve %42,5 oranlarında gözlendi. Yapılan incelemede, MMP-8 allelleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,861).

Sigara içme alışkanlığına göre Evre I-II ve Evre III-IV periodontitis hastalarında, MMP-8 C ve T allellerinin incelemesinden elde edilen bulgular Tablo 21'de gösterilmektedir.

Tablo 21. Sigara içme alışkanlığına göre C ve T allellerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında incelemesi

	Sigara içmiyor				**Sigara içiyor**			
	Toplam n=74	**Evre I-II** n=44	**Evre III-IV** n=30	**p**	**Toplam** n=126	**Evre I-II** n=36	**Evre III-IV** n=90	**p**
MMP-8								
C Alleli	41 (55,4)	26 (59,1)	15 (50)	0,440	73 (57,9)	19 (52,8)	54 (60)	0,458
T Alleli	33 (44,6)	18 (40,9)	15 (50)		53 (42,1)	17 (47,2)	36 (40)	

Sigara içen Evre I-II periodontitisli hastaların %52,8'inde C alleli, %47,2'sinde T alleli gözlenirken Evre III-IV periodontitisli hastaların %60'ında C alleli ve %40'ında T alleli gözlendi. Yapılan incelemede, sigara içmeyen hastalarda MMP-8 allelleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,458).

Sigara içmeyen Evre I-II periodontitisli hastaların %59,1'inde C alleli, %40,9'unda CT alleli tespit edilirken Evre III-IV periodontitisli hastalarda %50 oranlarında C ve T alleli gözlendi. Yapılan analizde, sigara içen hastalarda MMP-8 allelleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,440).

MMP-9 Gen Polimorfizmi Ve Evrelerin Karşılaştırması

MMP-9 A ve G allelleri Evre I-II ve Evre III-IV grupları açısından karşılaştırıldı. Elde edilen bulgular Tablo 22'de paylaşıldı.

Tablo 22. A ve G allellerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında incelemesi

	Toplam n=200	**Evre I-II** n=80	**Evre III-IV** n=120	**p**
MMP-9				
A Alleli	132 (66)	52 (65)	80 (66,7)	0,807
G Alleli	68 (34)	28 (35)	40 (33,3)	

MMP-9 A ve G allelleri sırasıyla, Evre I-II periodontitis hastalarında; %65 ve %35, Evre III-IV periodontitis hastalarında; %66,7 ve %33,3 oranlarında gözlendi. Yapılan incelemede, MMP-9 allelleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,807).

Sigara içme alışkanlığına göre Evre I-II ve Evre III-IV periodontitis hastalarında, MMP-9 AA, AG ve GG allellerinin incelemesinden elde edilen bulgular Tablo 23'de gösterilmektedir.

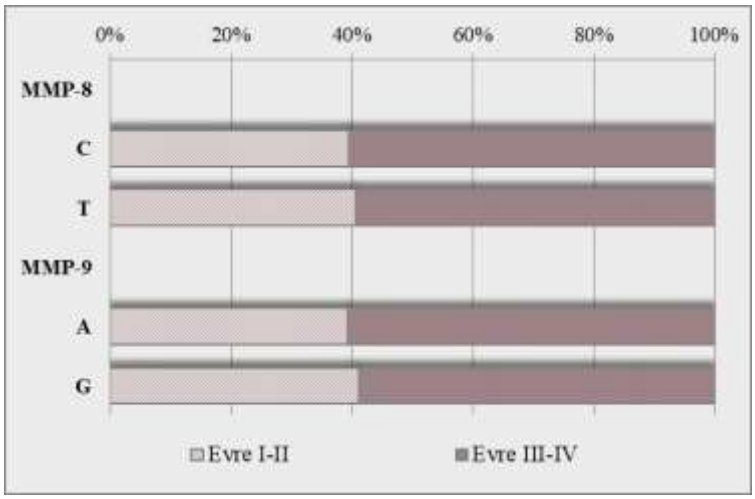
Tablo 23. Sigara içme alışkanlığına göre A ve G allellerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında incelemesi

	Sigara içiyor				Sigara içmiyor			
	Toplam n=74	**Evre I-II** n=44	**Evre III-IV** n=30	**p**	**Toplam** n=126	**Evre I-II** n=36	**Evre III-IV** n=90	**p**
MMP-9								
A Alleli	45 (60,8)	26 (59,1)	19 (63,3)	0,714	87 (69)	26 (72,2)	61 (67,8)	0,626
G Alleli	29 (39,2)	18 (40,9)	11 (36,7)		39 (31)	10 (27,8)	29 (32,2)	

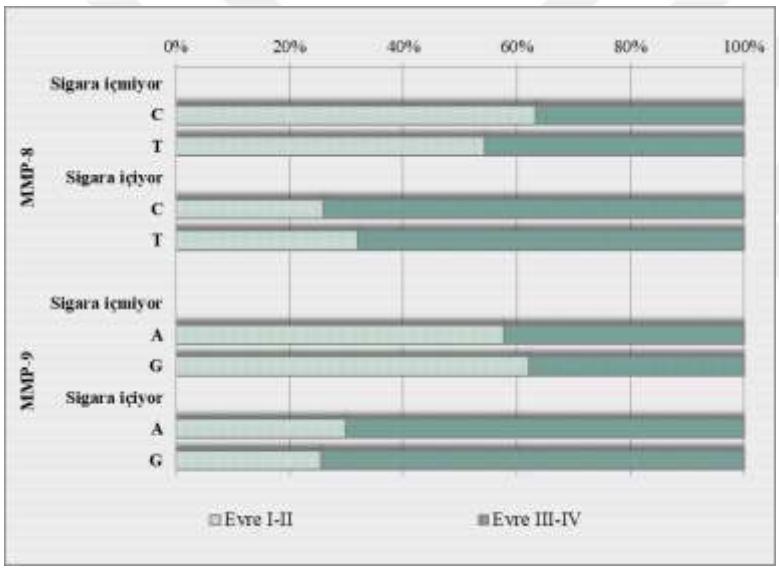
Sigara içen Evre I-II periodontitisli hastaların %72,2'sinde A alleli, %27,8'inde G alleli gözlenirken Evre III-IV periodontitisli hastaların %67,8'sinde A alleli, %32,2'sinde G alleli gözlendi. Yapılan incelemede, sigara içmeyen hastalarda MMP-9 allelleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,626).

Sigara içmeyen Evre I-II periodontitis hastalarından %59,1'inde A alleli, %40,9'unda G alleli, Evre III-IV periodontitis hastalarından ise %63,3'ünde A alleli, %36,7'sinde G alleli gözlendi. Yapılan analizde, sigara içen hastalarda MMP-9 allelleri ile evre grupları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,714).

Şekil 9'da MMP-8 ve MMP-9 C, T ve A, G allellerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarına göre oransal dağılımları gösterilmektedir. Şekil 10'da ise hastaların sigara içme alışkanlığına göre ele alınan MMP-8 ve MMP-9 allellerinin Evre I-II ve Evre III-IV gruplarında oransal dağılımları gösterilmektedir.



Şekil 9. MMP-8 ve MMP-9 allellerinin periodontitis evrelerine göre oransal dağılımları



Şekil 10. MMP-8 ve MMP-9 allellerinin periodontitis evrelerine göre oransal dağılımları

HASTALARDA TAŞINAN ALLELE GÖRE GENOTİPLERİN KLİNİK PERİODONTAL DURUM İLE ARASINDAKİ İLİŞKİ İNCELEMESİ

MMP-8 Gen Polimorfizmi

Hastalarda, taşıdıkları allellere göre MMP-8 genotipleri klinik periodontal parametreler açısından incelendi. İncelemeden elde edilen bulgular Tablo 24'te gösterildi.

Tablo 24. Taşınan allele göre MMP-8 genotiplerinin klinik periodontal durum ile arasındaki ilişki incelemesi

	CC&CT n=86	**TT** n=14	**p**	**TT&CT** n=28	**CC** n=72	**p**
SCD (mm)						
Ortalama±ss	3,7±0,9	3,9±1		3,8±0,9	3,7±1	
Medyan (ÇA)	3,58 (1)	3,68 (1,4)	0,578	3,71 (1,1)	3,4 (1)	0,227
Min-Maks	1,7-7,6	2,73-6,68		1,7-7,6	2,36-6,54	
GI (mm)						
Ortalama±ss	1,7±0,5	1,8±0,6		1,8±0,5	1,7±0,4	
Medyan (ÇA)	1,96 (0,6)	1,73 (0,6)	0,947	1,96 (0,5)	1,81 (0,8)	0,296
Min-Maks	0,38-3	0,56-3		0,38-3	1-2,17	
PI (mm)						
Ortalama±ss	1,8±0,6	1,9±0,7		1,9±0,6	1,8±0,7	
Medyan (ÇA)	1,73 (0,8)	1,67 (1,1)	0,948	1,81 (0,9)	1,68 (1)	0,388
Min-Maks	0,85-3	1,16-3		0,85-3	1-3	
SKY (%)						
Ortalama±ss	0,7±0,4	0,7±0,3		0,7±0,3	0,7±0,4	
Medyan (ÇA)	1 (0,6)	0,62 (0,6)	0,570	1 (0,6)	0,8 (0,7)	0,389
Min-Maks	0-2	0,2-1		0-1	0,08-2	
KAS (mm)						
Ortalama±ss	3,7±1,5	3,2±1,9		3,6±1,6	3,6±1,4	
Medyan (ÇA)	3,78 (1,3)	3,65 (2,7)	0,673	3,8 (1,5)	3,54 (1,4)	0,514
Min-Maks	0-7,01	0-5,58		0-7,01	0-6,54	

ss: Standart sapma, **ÇA:** Çeyrekler açıklığı, **Min-Maks:** Minimum-Maksimum değer; **SCD:** Sondlama cep derinliği, **GI:** Gingival indeks, **PI:** Plak indeks, **SKY:** Sondlamada kanama yüzdesi, **KAS:** Klinik ataşman seviyesi.

Toplam hasta üzerinde yapılan incelemede, CC&CT ile TT genotipleri arasında ve TT&CT ile CC genotipleri arasında tüm klinik periodontal parametreler açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan hastalarda, taşıdıkları allellere göre MMP-8 genotipleri klinik periodontal parametreler açısından incelendi. İncelemeden elde edilen bulgular Tablo 25 ve Tablo 26'de gösterildi.

Tablo 25. Sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan hastalarda CC&CT ve TT genotiplerinin klinik periodontal durum ile arasındaki ilişki incelemesi

	Sigara içmiyor			Sigara içiyor		
	CC&CT n=34	**TT** n=3	**p**	**CC&CT** n=52	**TT** n=11	**p**
SCD (mm)						
Ortalama±ss	3,4±0,7	3,2±0,1		4±1	4,1±1,1	
Medyan (ÇA)	3,3 (0,7)	3,18 (0)	-	3,81 (1,3)	4,02 (1,5)	0,638
Min-Maks	1,7-5,39	3,09-3,3		2,49-7,6	2,73-6,68	
GI (mm)						
Ortalama±ss	1,6±0,5	1,7±1,1		1,8±0,4	1,8±0,5	
Medyan (ÇA)	1,66 (0,8)	1,66 (0)	-	2 (0,5)	1,8 (0,6)	0,722
Min-Maks	0,38-3	0,56-2,8		1,08-3	1,24-3	
PI (mm)						
Ortalama±ss	1,8±0,6	1,8±0,9		1,9±0,6	1,9±0,6	
Medyan (ÇA)	1,61 (1)	1,4 (0)	-	1,8 (0,8)	1,7 (1)	0,957
Min-Maks	0,85-3	1,26-2,8		1-3	1,16-3	
SKY (%)						
Ortalama±ss	0,6±0,4	0,4±0,2		0,8±0,3	0,7±0,3	
Medyan (ÇA)	0,56 (0,7)	0,39 (0)	-	1 (0,5)	1 (0,6)	0,612
Min-Maks	0-1	0,2-0,66		0,08-2	0,24-1	
KAS (mm)						
Ortalama±ss	3,3±1,7	1±1,8		3,9±1,3	3,8±1,5	
Medyan (ÇA)	3,69 (1,3)	0 (0)	-	3,95 (1,3)	4,02 (1,9)	0,842
Min-Maks	0-7,01	0-3,09		0-6,55	0-5,58	

ss: Standart sapma, **ÇA:** Çeyrekler açıklığı, **Min-Maks:** Minimum-Maksimum değer; **SCD:** Sondlama cep derinliği, **GI:** Gingival indeks, **PI:** Plak indeks, **SKY:** Sondlamada kanama yüzdesi, **KAS:** Klinik ataşman seviyesi.

Sigara içmeyen hastalarda TT genotipi istatistiksel analiz için yetersiz gözlenmesi nedeniyle klinik periodontal parametreler açısından incelenemedi. Sigara içen hastalarda yapılan incelemede, tüm klinik periodontal parametreler açısından CC&CT ile TT genotipleri arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

Tablo 26. Sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan hastalarda TT&CT ve CC genotiplerinin klinik periodontal durum ile arasındaki ilişki incelemesi

	Sigara içmiyor			Sigara içiyor		
	TT&CT n=30	**CC** n=7	**p**	**TT&CT** n=42	**CC** n=21	**p**
SCD (mm)						
Ortalama±ss	3,4±0,7	3,1±0,4		4,1±1	3,9±1,1	
Medyan (ÇA)	3,28 (0,8)	3,26 (0,8)	0,295	3,96 (1,2)	3,58 (1,5)	0,218
Min-Maks	1,7-5,39	2,36-3,45		2,49-7,6	2,76-6,54	
GI (mm)						
Ortalama±ss	1,7±0,6	1,4±0,3		1,9±0,4	1,7±0,4	
Medyan (ÇA)	1,85 (0,7)	1,41 (0,5)	0,155	1,96 (0,5)	2 (0,6)	0,668
Min-Maks	0,38-3	1-2		1,2-3	1,08-2,17	
PI (mm)						
Ortalama±ss	1,8±0,7	1,5±0,5		1,9±0,6	1,8±0,7	
Medyan (ÇA)	1,61 (1)	1,5 (1)	0,294	1,95 (0,8)	1,7 (1,1)	0,578
Min-Maks	0,85-3	1-2,24		1-3	1-3	
SKY (%)						
Ortalama±ss	0,7±0,4	0,4±0,3		0,8±0,3	0,8±0,4	
Medyan (ÇA)	0,69 (0,6)	0,2 (0,3)	0,045	1 (0,5)	1 (0,6)	0,961
Min-Maks	0-1	0,16-1		0,24-1	0,08-2	
KAS (mm)						
Ortalama±ss	3,3±1,8	2,3±1,6		3,8±1,5	4,1±1	
Medyan (ÇA)	3,7 (1,6)	2,94 (3,5)	0,059	4,01 (1,2)	3,82 (1,5)	0,988
Min-Maks	0-7,01	0-3,7		0-6,55	2,76-6,54	

ss: Standart sapma, **ÇA:** Çeyrekler açıklığı, **Min-Maks:** Minimum-Maksimum değer; **SCD:** Sondlama cep derinliği, **GI:** Gingival indeks, **PI:** Plak indeks, **SKY:** Sondlamada kanama yüzdesi, **KAS:** Klinik ataşman seviyesi.

Sigara içmeyen hastalarda yapılan incelemede, TT&CT ile CC genotipleri arasında sondlamada kanama yüzdesi açısından anlamlı fark tespit edildi (p=0,045). Sondlamada kanama yüzdesi T alleli taşıyan TT&CT genotiplerinde (0,69 (0,6)) CC genotipine (0,2 (0,3)) göre anlamlı derecede daha yüksekti. Sigara içen hastalar üzerinde yapılan incelemede ise tüm klinik periodontal parametreler açısından TT&CT ile CC genotipleri arasında anlamlı fark bulunmadı (p>0,05).

MMP-9 Gen Polimorfizmi

Hastalarda, taşıdıkları allellere göre MMP-9 genotipleri klinik periodontal parametreler açısından incelendi. İncelemeden elde edilen bulgular Tablo 27'te gösterildi.

Tablo 27. Taşınan allele göre MMP-9 genotiplerinin klinik periodontal durum ile arasındaki ilişki incelemesi

	AA&AG n=88	GG n=12	p	GG&AG n=56	AA n=44	p
SCD (mm)						
Ortalama±ss	3,8±1	3,7±0,9		3,9±0,9	3,6±1	
Medyan (ÇA)	3,56 (1)	3,81 (1,3)	0,824	3,75 (1,3)	3,45 (1)	0,088
Min-Maks	1,7-7,6	2,36-5,39		2,3-7,6	1,7-6,68	
GI (mm)						
Ortalama±ss	1,8±0,4	1,7±0,7		1,7±0,5	1,8±0,5	
Medyan (ÇA)	1,92 (0,5)	1,65 (0,8)	0,472	1,96 (0,6)	1,85 (0,5)	0,776
Min-Maks	0,56-3	0,38-3		0,38-3	0,56-3	
PI (mm)						
Ortalama±ss	1,9±0,6	1,7±0,6		1,8±0,6	1,9±0,6	
Medyan (ÇA)	1,71 (0,8)	1,79 (1,2)	0,469	1,7 (0,9)	1,75 (0,9)	0,573
Min-Maks	1-3	0,85-2,5		0,85-3	1-3	
SKY (%)						
Ortalama±ss	0,7±0,3	0,5±0,4		0,7±0,4	0,7±0,3	
Medyan (ÇA)	1 (0,6)	0,3 (0,8)	0,048	1 (0,6)	1 (0,6)	0,505
Min-Maks	0-2	0,08-1		0,08-2	0-1	
KAS (mm)						
Ortalama±ss	3,6±1,5	3,9±1,7		3,6±1,8	3,6±1,2	
Medyan (ÇA)	3,76 (1,5)	4,03 (1,6)	0,490	4 (1,7)	3,71 (0,9)	0,395
Min-Maks	0-6,61	0-7,01		0-7,01	0-6,54	

ss: Standart sapma, **ÇA:** Çeyrekler açıklığı, **Min-Maks:** Minimum-Maksimum değer; **SCD:** Sondlama cep derinliği, **GI:** Gingival indeks, **PI:** Plak indeks, **SKY:** Sondlamada kanama yüzdesi, **KAS:** Klinik ataşman seviyesi.

Toplam hasta üzerinde yapılan incelemede, AA&AG ile GG genotipleri arasında sondlamada kanama yüzdesi açısından anlamlı fark tespit edildi (p=0,048). Sondlamada kanama yüzdesi A alleli taşıyan AA&AG genotiplerinde (1 (0,6)) GG genotipine (0,3 (0,8)) göre anlamlı derecede daha yüksekti.

Diğer tüm klinik periodontal parametreler açısından yapılan incelemede, AA&AG ile GG genotipleri arasında ve GG&AG ile AA genotipleri arasında anlamlı fark bulunmadı (p>0,05).

Sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan hastalarda, taşıdıkları allellere göre MMP-9 genotipleri klinik periodontal parametreler açısından incelendi. İncelemeden elde edilen bulgular Tablo 28 ve Tablo 29'da gösterildi.

Tablo 28. Sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan hastalarda AA&AG ve GG genotiplerinin klinik periodontal durum ile arasındaki ilişki incelemesi

	Sigara içmiyor			Sigara içiyor		
	AA&AG n=31	**GG** n=6	**p**	**AA&AG** n=57	**GG** n=6	**p**
SCD (mm)						
Ortalama±ss	3,3±0,6	3,7±1		4±1	3,8±0,7	
Medyan (ÇA)	3,25 (0,5)	3,56 (1,4)	0,240	3,8 (1,4)	3,96 (1,5)	0,761
Min-Maks	1,7-4,6	2,36-5,39		2,49-7,6	2,76-4,57	
GI (mm)						
Ortalama±ss	1,7±0,6	1,3±0,6		1,8±0,4	2±0,7	
Medyan (ÇA)	1,7 (0,7)	1,2 (1)	0,166	2 (0,5)	2 (1,4)	0,537
Min-Maks	0,56-3	0,38-2		1,09-3	1,08-3	
PI (mm)						
Ortalama±ss	1,8±0,6	1,6±0,6		1,9±0,6	1,8±0,6	
Medyan (ÇA)	1,6 (0,9)	1,59 (1,3)	0,433	1,74 (0,8)	1,82 (1,4)	0,851
Min-Maks	1-3	0,85-2,3		1-3	1,08-2,5	
SKY (%)						
Ortalama±ss	0,6±0,3	0,4±0,4		0,8±0,3	0,6±0,4	
Medyan (ÇA)	0,61 (0,6)	0,2 (0,9)	0,141	1 (0,5)	0,65 (0,8)	0,249
Min-Maks	0-1	0,09-1		0,13-2	0,08-1	
KAS (mm)						
Ortalama±ss	3±1,7	3,8±2,3		3,9±1,4	4±1	
Medyan (ÇA)	3,46 (1,3)	3,85 (2,7)	0,291	3,9 (1,3)	4,28 (1,9)	0,815
Min-Maks	0-6,61	0-7,01		0-6,55	2,76-5,16	

ss: Standart sapma, **ÇA:** Çeyrekler açıklığı, **Min-Maks:** Minimum-Maksimum değer; **SCD:** Sondlama cep derinliği, **GI:** Gingival indeks, **PI:** Plak indeks, **SKY:** Sondlamada kanama yüzdesi, **KAS:** Klinik ataşman seviyesi.

Sigara içmeyen ve sigara içen hastalar üzerinde yapılan incelemede, tüm klinik periodontal parametreler açısından AA&AG ile GG genotipleri arasında anlamlı fark tespit edilmedi (p>0,05).

Sigara içmeyen ve sigara içen hastalarda yapılan incelemede, G alleli taşıyan GG&AG ile AA genotipleri arasında sondlama cep derinliği açısından anlamlı fark bulundu (p=0,028). Sondlama cep derinliği, G alleli taşıyan GG&AG (4,01 (1,2)) genotiplerinde AA genotipine (3,61 (1,2)) göre anlamlı derecede daha fazlaydı. Diğer tüm klinik periodontal parametreler açısından GG&AG ile AA genotipleri arasında anlamlı fark tespit edilmedi (p>0,05).

Tablo 29. Sigara içme alışkanlığı olan ve olmayan hastalarda GG&AG ve AA genotiplerinin klinik periodontal durum ile arasındaki ilişki incelemesi

	Sigara içmiyor			Sigara içiyor		
	GG&AG n=23	**AA** n=14	**p**	**GG&AG** n=33	**AA** n=30	**p**
SCD (mm)						
Ortalama±ss	3,4±0,7	3,2±0,6		4,2±1	3,8±1	
Medyan (ÇA)	3,3 (0,7)	3,24 (0,8)	0,650	4,01 (1,2)	3,61 (1,2)	0,028
Min-Maks	2,3-5,39	1,7-4,05		2,76-7,6	2,49-6,68	
GI (mm)						
Ortalama±ss	1,6±0,5	1,7±0,6		1,8±0,4	1,8±0,4	
Medyan (ÇA)	1,61 (0,8)	1,68 (0,9)	0,886	2 (0,5)	1,96 (0,5)	0,983
Min-Maks	0,38-2,8	0,56-3		1,08-3	1,09-3	
PI (mm)						
Ortalama±ss	1,7±0,6	1,9±0,7		1,9±0,6	1,9±0,6	
Medyan (ÇA)	1,5 (1)	1,76 (1,1)	0,323	1,9 (0,7)	1,73 (0,9)	0,793
Min-Maks	0,85-3	1-3		1-3	1-3	
SKY (%)						
Ortalama±ss	0,6±0,3	0,6±0,4		0,8±0,4	0,8±0,3	
Medyan (ÇA)	0,5 (0,7)	0,69 (0,8)	0,961	1 (0,6)	1 (0,5)	0,677
Min-Maks	0,09-1	0-1		0,08-2	0,25-1	
KAS (mm)						
Ortalama±ss	3,3±1,9	2,9±1,7		3,8±1,7	3,9±0,8	
Medyan (ÇA)	3,46 (1,7)	3,7 (1,9)	0,838	4,2 (1,7)	3,77 (1,1)	0,215
Min-Maks	0-7,01	0-5,05		0-6,55	2,73-6,54	

ss: Standart sapma, **ÇA:** Çeyrekler açıklığı, **Min-Maks:** Minimum-Maksimum değer; **SCD:** Sondlama cep derinliği, **GI:** Gingival indeks, **PI:** Plak indeks, **SKY:** Sondlamada kanama yüzdesi, **KAS:** Klinik ataşman seviyesi.

TARTIŞMA

Dental plağın içeriğindeki mikroorganizmaların çeşitliliği, sosyal ve çevresel etkenler, sistemik hastalıkların varlığı ve genetik faktörler periodontal hastalığın boyutunu değiştirmektedir.

Önemli bir faktör olan gen polimorfizmleri genotipte ve allellerde farklılık oluşturabilmektedir. Farklılıkların bir sonucu olarak bireyler arasında konak cevabında tezatlıklar görülebilmektedir. Polimorfizm çalışmaları aynı çevresel yapısı ve benzer hayat şartları olan bireylerdeki konak cevabında farklılıklar olmasının nedenini periodontitisin moleküler biyolojisine inerek aramaktadır (49).

Genetik olarak kompleks hastalıklar ile toplumda sıklıkla karşılaşılmaktadır. Bu oran %1'den daha yüksektir. Ailesel kalıtımın etkili olabildiği Papillon-lefevre, Huntington hastalığı, kistik fibrozis gibi monojenik genetik hastalıkların dışında bu paterne uymayan kompleks hastalıklar vardır. Bunlarda çoklu değişkenlik gösteren gen lokusları, çevresel ve davranışsal faktörler etkilidir.

Mediatörler olarak matriks metalloproteinazlar genomdan etkilenip konak cevabında yıkımın seviyesini belirleyen moleküllerdendir. Allel olarak farklılık gözlenen bireylerde periodontitis oluşma riski beklenmektedir (58). MMP yolağı klinik ataşman kaybı ve kemik kaybı olmak üzere temel hücre yıkım mekanizmasında önem teşkil etmektedir. Periodontal ligament, nötrofil, T hücreleri gibi periodontal dokuların savunmasında yer alan konak faktörlerinden salınan MMP'ler DOS'ta ve tükürükte de incelendiği üzere periodontitis durumunda sağlıklı bireylere kıyaslandıklarında yüksek miktarda olduğu fark edilmektedir. Yapılan son dönemdeki çalışmalar, MMP-8 gibi faktörlerin indikatör olmasını

desteklemektedir ve bu indikatörlerle yapılan taramalar sonucu olumlu veriler elde edilmektedir (87, 88). DOS sıvısından incelenen çalışmalarda MMP-8, MMP-9'un artışı tespit edilmiş olup diş destek yapılarıyla ilişkide bulunan kollajenin yıkımı ile ilişkilendirilmiştir (89-93). Sınıflamaya göre derecelendirilmiş yeni dönemdeki çalışmalarda MMP-8 seviyeleri periodontitisin iki grubunda B ve C arasında da farklı sonuçlanmaktadır (94). Kollajen yıkım son ürünleri ile MMP'leri değerlendiren çalışmalarda MMP-8, MMP-9, MMP-13 enzimlerinin tükürükte bakıldığında periodontitisli bireylerde kontrol grubuna göre artışının belirgin olduğu belirtilmektedir ve kollajen yıkımının ürünleriyle ilişkilendirilmektedir. Özellikle nötrofil salınımlı MMP-8 biyobelirteç adayı olarak değerli bulunmuştur (95). Vaka kontrol çalışmaları yanı sıra derleme ve meta analizler sonuçları desteklemektedir (96). DOS'taki artışlarla ilişkilendirmek ve konak yanıtının temeline ulaşmak için gen çalışmalarına bakıldığında birçok çalışma hem DOS'taki enzimal artışların hem de genotipteki farklılıkların klinik durumla ilişkisini bağdaştırmaya çalışmaktadır. Periodontitisin patofizyolojisine bakıldığında belirli inflamatuar mediatörler ön plana çıkar bunlar periodontal dokuların yıkımı, destek dokuların kaybı ve alveolar kemik kaybına etkileri olduğundan önemlidir. Gen polimorfizmleri hastalığın klinik yansımaları ile ilişkilendirilmiştir (67).

Periodontitisi etkileyen MMP'lerin türlerinde gerçekleşen TNP'ler dikkat çekmektedir. Protein kodlanmasında görev alan genlerdeki lokuslar nedeniyle her kodlamada farklı bir protein elde edilmesi sonucunda fenotipin etkilenmesi olasıdır. Ancak mutasyon sebebiyle gözlenen hastalıklara kıyasla genetik polimorfizmlerde direkt olarak bir neden ilişkisi olduğu söylenemez. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda yalnızca toplumdaki polimorfizmin görülme sıklığı ile bireylerdeki etkilenme durumları değerlendirilmiştir. Vaka kontrol çalışmalarında hastalıkla ilişkilendirmek güç olabilir. Hasta seçiminin teşhis kriterlerindeki değişkenler, periodontitisin birçok evresinin ve derecesinin olması, komplike hastalıklarda toplum baz alındığında karmaşık bir hetorojen gen havuzu olması, sigara gibi risk faktörleri ve hastanın doğru bilgi vermeme ihtimali, geçirilen hastalıklar, kullanılan ilaçlar kısıtlamalar oluşturmaktadır (97). Aynı zamanda toplumdan topluma değişen polimorfizmler çeşitli varyasyonlar gösterebilmektedir.

MMP-8 İLE İLİŞKİLİ ÇALIŞMALAR

MMP-8 için rs1940475 Lys87Glu genleri ile ilgili sistemik hastalıklar incelendiğinde osteonekroz, meme kanseri, osteoartrit ve adenokarsinom gibi hastalıklarda yapılan çalışmalarda TNP ve haplotip analizlerinde ilişkili sonuçlar elde edilmiştir (98-100). MMP'lerin tümör metastazları gibi de birçok hücresel süreci etkileme kabiliyetinde olduğu

bilinmektedir. İki istenmeyen tipte TNP'nin kümülatif ve toplu olarak ilişkili genlerle etkilerinin olabileceği bildirilmiştir. TNP'lerin MMP-8'in sentezlenme yolağında propeptitlerin glutamat-lizinin katkı sağlamasıyla (101) proMMP-8'in aktivasyonunu ekilediği yapılan çalışmalarda değerlendirilmektedir (102). Çalışmada değerlendirilen MMP-8 gen bölgesi exon kodlanma bölgesindedir.

Periodontitis hastaları dahil edilerek yapılan MMP-8 çalışmalarındaki bölgeler promotor bölge olan rs1320632 MMP-8 -799C/T, rs2155052 +7G-C ve rs11225395 -381A/G'dir (103). Türk popülasyonunda Agresif Periodontitis hastalarında -799C/T TaqMan ile yapılan çalışmada T allel frekansı bakıldığında %89 GAgP grubunda bulunurken %54,5 ise sağlıklı grupta karşılaştırılarak anlamlı bulunmuştur (67). Weng ve ark. tarafından yapılmış meta analizdeki değerlendirmede 3 farklı çalışmaya yer verilmiştir (80). Bu çalışmaların iki tanesi Asya nüfusunda bir diğeri de Çek nüfusunda yapılmıştır. Sigara içmeyen, Asyalı, Kronik Periodontitis hastalarıyla MMP-8 polimorfizmi arasında 4 genetik modellemede T allelinin C'ye görece ilişkili olduğu bulunmuştur (103, 104). MMP-8 gen bölgelerinin sistemik hastalıkların üzerindeki etkisinin fazla incelenmemiş olmasına rağmen T minör allelinin hastalık riskinin azalmasıyla ilişkilendirildiği bildirilmektedir (80). Çalışmada -799C/T için T allelinin promotor aktiviteyi arttırdığı MMP-8 gen ekspresyonunu sağladığı ve MMP-8 salgılanmasını arttırdığı düşünülse de Hint popülasyonunda DOS'ta bu artış verilerle desteklenmemiştir (105).

Bu üç gen bölgesi dışında geniş kapsamlı çalışma bulunmamaktadır. MMP-8 rs1940475 Lys87Glu periodontitis hastalarında daha önce incelenmemiştir. Elde edilen verilerle sağlıklı ve hasta grup arasında iki grupta da en yüksek CT genotipi bulunmuştur ancak anlamlı bir fark yoktur. Sigara içenler arasında bakıldığında çevresel etken olarak değerlendirilmiş anlamlı fark bulunmamıştır. Allel karşılaştırmasında hasta grupta %57,5 ile asıl C alleli bulunsa da hasta ve sağlıklı gruplarda oranlar yakın bulunmuştur. Ancak nadir olması beklenen T alleliyle anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Hasta grubun evre olarak yapılan karşılaştırılmasında da 1. ve 2. evre ile 3. ve 4. evreler arasında sigara içen içmeyen ve majör /minör allellerle ilgili olarak da herhangi bir anlamlı fark bulunmamıştır.

MMP-9 İLE İLİŞKİLİ ÇALIŞMALAR

MMP-9 rs17576 Q279R gen bölgesiyle ilgili sistemik hastalıklardan diyabette, obezitede, koroner arter hastalıklarında, aort anevrizmalarında, cerebrovasküler hastalıklarda, göz hastalıklarında, akciğer kanserlerinde, Parkinson hastalığında, prostat kanserlerinde ve metastazlarda anlamlı olarak ilişkilendirilmiştir (106-113). Polen alerjisi, dental florozis,

obeziteye bağlı hipertansiyon, peptik ülser gibi hastalıklarla ise anlamlı ilişki kurulamamıştır (114-117).

MMP-9 ile ilgili yapılan periodontitis çalışmaları promotor bölge olan rs3918242 -1562C/T ile rs17576 Q279R arasındadır. MMP-9-1562 C/T T allelinde toplu meta analizlerle eklenerek bakıldığında azalmış risk gözlenmektedir. Ancak Türk popülasyonunda genotipte ilişkilendirilemese de periodontitisin duyarlılığının azalmasıyla ilişkili T alleli değerlendirilmektedir. 2015 yılında yapılan derlemede MMP-9 için iki gen bölgesinde de Kafkas ve Asya popülasyonuna bakıldığında belirgin bir fark gözlenmemiştir (73, 118). Hastalığın orta ve ileri seviye arasındaki dağılımında da sigara içen içmeyen ayrımında da herhangi anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (119-121). Başka bir meta analiz ise MMP-9 -1562 C/T periodontitisin gelişimine etkili olduğunu belirtmiştir (122). Yapılan meta analizlerde havuz oluşturularak incelenen vaka kontrol çalışmaları için her türlü TNP genetik modellemesinde anlamlı bir farklılık bulunmasa da alt grup modelerinde homozigot incelemede T genotipinde ve çekinik modellemede (TT ile TC, CC arasında) anlamlı farklılık bulunmuştur (105, 123, 124). Türk popülasyonunda ise CC ile CT,TT arasında değerlendirmesinde farklılık bulunmuştur (74). Diğer bir anlamlı bulunan çalışma da Asya popülasyonundadır. CC genotipi daha yüksek bulunmuştur (125). Alt grup analizlerinde etnik köken dikkate alınmaktadır ve MMP-9 -1562 C/T ile periodontitis ilişkilendirilmiştir(80). MMP-9 rs17576 Q279R için ise yapılan çalışmayı destekler nitelikte önceki vaka-kontrol çalışmalarında anlamlı sonuçlar bulunmamıştır (119).

Araştırmamızdaki hasta seçiminde, önceki litaratüler incelenip, oluşturulan hasta gruplarında benzer kriterler değerlendirmeye alınmıştır. Oluşturulan gruplarda, bireylerin sistemik olarak metabolizmasını etkileyebilecek bir hastalık barındırmaması ya da son altı ay içerisinde antibiyotik tedavisi görmemiş, herhangi bir ilaç kullanmamış olması planlanmıştır. Grup yaş aralığı 30-70 olarak seçilmiştir. Genel sistemik durum açısından sağlıklı olarak kabul edilen kişiler çalışmaya dahil edilmiştir. Periodontitis grubuna 55 erkek, 45 kadın toplam 100 hasta dahil edilirken; sağlıklı gruba 48 erkek, 52 kadın toplam 100 gönüllü dahil edilmiştir. Cinsiyet faktörünü sonuçları etkilememesi için yakın dağılım sağlanmıştır.

Geçmişten günümüze periferal kandan toplanan örneklerle değerlendirilen TNP çalışmaları hastaneye yatışı olan hastalarda kolaylık sağlasalar da diş hekimliği prosedürleri için gelen hastalara daha az komplike yöntemler bulmak önem kazanmıştır. Hastalardan tükürük toplanması kan vermesine kıyasla daha az komplikasyonlu olmuştur ve kooperasyonu arttırmıştır. Hastalara sorulduğunda seçenek olarak hepsi tükürük vermeyi tercih etmiştir. Referans çalışmalar tamamen kan örneklerinden alınarak yapılmıştır (76). Kandan pasif

intrasellüler difüzyon ve aktif transport yolu ile tükürüğe geçen komponenetler, tükürük örneklerinin elde edilmesi ile incelenebilmektedir (126). Nükleik asit yapılarının bulunması, tükürük transkriptom sayesinde DNA izolasyonunu mümkün kılmaktadır.

DNA analiz yöntemi olarak PZR-RFLP yöntemi en çok kullanılan, doğrulu kanıtlanmış basit ve temel bir yöntemdir. Taqman sistemi kadar hızlı olmasa da agaroz jelde yürütülen kesim ürünlerinin göz ile değerlendirilmesiyle sonuçlara ulaşılmıştır.

Sonuçlar MMP-9 rs17576 Q279R ve MMP-8 rs1320632 -799C/T gen bölgelerindeki polimorfizmlerin hastalığa yatkınlıkla bir ilişkisi olmadığını bize göstermektedir.

SONUÇLAR

Çalışma herhangi bir anlamlı ilişki olmadan sonuçlanmıştır. Öncelikle periodontitis birçok faktöre bağlı bir hastalıktır; çalışma şartları için her ne kadar ideal koşullar sağlansa da obezite, sigara, hastanın beslenmesi, oral hijyen alışkanlıkları, ağız içindeki periodontitis harici çürük ve benzeri enfeksiyon odakları ve dental restorasyonların durumu sebebiyle çevresel faktörler sonuçları etkilemektedir. Gen çalışması yapıldığında sonuçlar periodontitis ile bağlantılı olup olmadığına dair olasılık sunmaktadır. Tek bir gen tüm etnik gruplarda periodontitisi açıklamak için yeterli değildir. Periodontitis patogenezi oldukça karmaşıktır (127). Vaka kontrol çalışmalarında TNP'ler periodontitis ile ilişkili gösterilseler de meta-analizlerde detaylı irdelendiğinde tutarsızlıklar vardır. Etnik gruplar bakıldığında klinik olarak TNP az prognostik değer gösterir. Ancak genetik paternler değerlendirildiğinde iki ya da daha fazla genin periodontal enflamasyonla ilişkisi daha doğru belirlenebilir (128).

ÖZET

Periodontal hastalıklar genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle hiperemi, kanama, çep oluşum, diş kaybı ve klinik bağlantı epiteli kaybı gibi durumların gözlendiği multifaktöriyel bir hastalıktır. Patogenezinde özellikle genetik polimorfizmlerin ilişkileri rapor edilmiştir.

Çalışmanın amacı, gen polimorfizmleri ile periodontal hastalık arasındaki korelasyonu değerlendirmek, genotip-fenotip ilişkisini ortaya koymak ve TNP'nin periodontitise yatkınlık üzerindeki rolünü incelemektir. MMP grubu ekstrasellüler matriks ile ilişkili olup periodontitis ve diğer hastalıklarda doku yıkım ve yenilenme metabolizmasının ana proteinazıdır.

Çalışmamızda MMP-8 ve MMP-9 ile periodontitisin genetik ilişkisinin incelenmesi için hastalardan alınan tükürük örneklerinden genomik DNA'lar izole edilerek PCR ve RFLP yöntemleriyle MMP-9 (rs17576) Q279R ve MMP-8 (rs1940475) Lys87Glu gen polimorfizmi araştırılması planlanmıştır. Trakya Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı'ndan 100 periodontitis hastası ve 100 periodontal durumu sağlıklı gönüllü toplamda 200 akrabalık ilişkisi olmayan Türk hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre MMP-8 ve MMP-9 ile ilişkili bakılan gen bölgelerinin periodontitis için genotip ve allel karşılaştırmasında istatistiksel olarak belirgin farklılık bulunmamıştır ($p < 0,05$).

Anahtar kelimeler: SNP, kronik periodontitis, gen polimorfizmi, martiks metalloproteinaz

ASSOCIATION OF MMP-9 AND MMP-8 POLYMORPHISM WITH PERIODONTITIS

SUMMARY

Periodontal diseases are multifactorial diseases in which genetic and environmental factors affect the clinical outcomes of the disease such as hyperemia, bleeding on probing, pathological pocket formation, tooth loss, and clinical attachment loss. Especially genetic polymorphisms have been previously reported in the pathogenesis of chronic periodontitis.

The study aims to evaluate the correlation between gene polymorphisms and periodontal disease, to reveal the genotype-phenotype relationship, and to examine the role of SNP on predisposition to periodontitis. MMPs are associated with extracellular matrix metabolism and the main proteinases related to tissue destruction and remodeling events in periodontal and other diseases.

Consequently, to examine the genetic relationship between MMP-8, MMP -9, and periodontitis, genomic DNAs were isolated from saliva samples that were obtained from patients. The Q279R (rs17576) and Lys87Glu (rs1940475) gene polymorphism were studied by PCR and RFLP methods. A total of 200 unrelated Turkish subjects including 100 Periodontitis patients and 100 subjects with healthy periodontal conditions were recruited from the Department of Periodontology, School of Dentistry, Trakya University.

According to the results of our study, statistically, there were no significant differences could be found between genotypes or allele frequencies of the gene regions associated with MMP-8 and MMP-9 for periodontitis ($p < 0,05$).

Anahtar kelimeler: SNP, chronic periodontitis, gene polymorphism, matrix metalloproteinase

KAYNAKLAR

1. Kassebaum N, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray C, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. Journal of dental research. 2014;93(11):1045-53.

2. Chapple IL, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. Journal of periodontology. 2018;89:S74-S84.

3. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol. 1999;4(1):1-6.

4. Salvi GE, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. Periodontol 2000. 1997;14:173-201.

5. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottega S, Orlandini E, Tosi M. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: II. Identification of "high-responder" and "low-responder" subjects. Journal of clinical periodontology. 2004;31(4):239-52.

6. Scapoli C, Tatakis DN, Mamolini E, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: interleukin-1 gene cluster polymorphisms. Journal of periodontology. 2005;76(1):49-56.

7. Demirel K ÇA. Periodontoloji bölüm Editörünün değerlendirmesi: İlk bilen siz olun: Periodontal hastalıkların tanı ve sınıflaması çalıştayı. Quintessence. 2020(3):73-8.

8. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple IL, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions–Introduction and key changes from the 1999 classification. Wiley Online Library; 2018.

9. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. Journal of periodontology. 2018;89:S173-S82.

10. Kesic L, Milasin J, Igic M, Obradovic R. Microbial etiology of periodontal disease-mini review. Medicine and biology. 2008;15(1):1-6.

11. Socransky S, Haffajee A, Cugini M, Smith C, Kent Jr R. Microbial complexes in subgingival plaque. Journal of clinical periodontology. 1998;25(2):134-44.

12. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. Annals of periodontology. 1996;1(1):821-78.

13. Khosla A, Gupta SJ, Jain A, Shetty DC, Sharma N. Evaluation and comparison of the antimicrobial activity of royal jelly–A holistic healer against periodontopathic bacteria: An in vitro study. Journal of Indian Society of Periodontology. 2020;24(3):221.

14. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. Periodontol 2000. 1997;14:33-53.

15. Kurgan S, Kantarci A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. Periodontology 2000. 2018;76(1):51-67.

16. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. Periodontology 2000. 2020;84(1):14-34.

17. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. Periodontol 2000. 1997;14:9-11.

18. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. Periodontology 2000. 2003;31(1):77-104.

19. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! Curr Opin Cell Biol. 2001;13(5):534-40.

20. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. Circ Res. 2003;92(8):827-39.

21. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. Oral Dis. 2004;10(6):311-8.

22. Cauwe B, Martens E, Proost P, Opdenakker G. Multidimensional degradomics identifies systemic autoantigens and intracellular matrix proteins as novel gelatinase B/MMP-9 substrates. Integr Biol (Camb). 2009;1(5-6):404-26.

23. Butler GS, Overall CM. Updated biological roles for matrix metalloproteinases and new "intracellular" substrates revealed by degradomics. Biochemistry. 2009;48(46):10830-45.

24. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. Journal of periodontology. 1993;64:474-84.

25. Ryan ME, Golub LM. Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy. Periodontology 2000. 2000;24(1):226-38.

26. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. Periodontology 2000. 2014;64(1):57-80.

27. Sorsa T, Tjäderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. Annals of medicine. 2006;38(5):306-21.

28. Serhan CN, Fiore S, Brezinski DA, Lynch S. Lipoxin A4 metabolism by differentiated HL-60 cells and human monocytes: conversion to novel 15-oxo and dihydro products. Biochemistry. 1993;32(25):6313-9.

29. Firth J, Putnins E, Larjava H, Uitto V. Bacterial phospholipase C upregulates matrix metalloproteinase expression by cultured epithelial cells. Infection and immunity. 1997;65(12):4931-6.

30. Putnins EE, Firth JD, Uitto V-J. Stimulation of collagenase (matrix metalloproteinase-1) synthesis in histiotypic epithelial cell culture by heparin is enhanced by keratinocyte growth factor. Matrix biology. 1996;15(1):21-9.

31. Curry Jr TE, Osteen KG. The matrix metalloproteinase system: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. Endocrine reviews. 2003;24(4):428-65.

32. Waterhouse P, Denhardt DT, Khokha R. Temporal expression of tissue inhibitors of metalloproteinases in mouse reproductive tissues during gestation. Molecular reproduction and development. 1993;35(3):219-26.

33. Brew K, Dinakarpandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology. 2000;1477(1-2):267-83.

34. Franco C, Patricia H-R, Timo S, Claudia B, Marcela H. Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation. International journal of molecular sciences. 2017;18(2):440.

35. Leppilahti JM, Hernández-Ríos PA, Gamonal JA, Tervahartiala T, Brignardello-Petersen R, Mantyla P, et al. Matrix metalloproteinases and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid provide site-specific diagnostic value for chronic periodontitis. Journal of clinical periodontology. 2014;41(4):348-56.

36. Saari H, Suomalainen K, Lindy O, Konttinen Y, Sorsa T. Activation of latent human neutrophil collagenase by reactive oxygen species and serine proteases. Biochemical and biophysical research communications. 1990;171(3):979-87.

37. Hernández M, Gamonal J, Tervahartiala T, Mäntylä P, Rivera O, Dezerega A, et al. Associations between matrix metalloproteinase-8 and-14 and myeloperoxidase in gingival

crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study. Journal of periodontology. 2010;81(11):1644-52.

38. Wei PF, Ho KY, Ho YP, Wu YM, Yang YH, Tsai CC. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1β in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. Journal of periodontal research. 2004;39(5):287-93.

39. Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, De Sousa TS, Taba Jr M, Teofilo JM, et al. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. Journal of clinical periodontology. 2010;37(2):180-90.

40. Golub LM, Sorsa T, Lee HM, Ciancio S, Sorbi D, Ramamurthy NS, et al. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. Journal of clinical periodontology. 1995;22(2):100-9.

41. McCulloch C. Collagenolytic enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. Annals of the New York Academy of Sciences. 1994;732:152-64.

42. Overall CM, Sodek J, McCulloch C, Birek P. Evidence for polymorphonuclear leukocyte collagenase and 92-kilodalton gelatinase in gingival crevicular fluid. Infection and immunity. 1991;59(12):4687-92.

43. Sorsa T, Uitto VJ, Suomalainen K, Vauhkonen M, Lindy S. Comparison of interstitial collagenases from human gingiva, sulcular fluid and polymorphonuclear leukocytes. Journal of periodontal research. 1988;23(6):386-93.

44. Gangbar S, Overall CM, McCulloch CA, Sodek J. Identification of polymorphonuclear leukocyte collagenase and gelatinase activities in mouthrinse samples: correlation with periodontal disease activity in adult and juvenile periodontitis. Journal of periodontal research. 1990;25(5):257-67.

45. Golub LM, Siegel K, Ramamurthy N, Mandel ID. Some characteristics of collagenase activity in gingival crevicular fluid and its relationship to gingival diseases in humans. Journal of Dental Research. 1976;55(6):1049-57.

46. Uitto VJ, Suomalainen K, Sorsa T. Salivary collagenase. Origin, characteristics and relationship to periodontal health. Journal of periodontal research. 1990;25(3):135-42.

47. Reynolds JJ, Meikle MC. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. Periodontology 2000. 1997;14(1):144-57.

48. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. Annals of periodontology. 1998;3(1):108-20.

49. Lang NP, Lindhe J. Clinical periodontology and implant dentistry, 2 Volume Set: John Wiley & Sons; 2015.

50. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Newman and Carranza's Clinical Periodontology E-Book: Elsevier Health Sciences; 2018.

51. Larsson L, Castilho RM, Giannobile WV. Epigenetics and its role in periodontal diseases: a state-of-the-art review. J Periodontol. 2015;86(4):556-68.

52. Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. Periodontol 2000. 1997;14:202-15.

53. Diehl SR, Wang Y, Brooks CN, Burmeister JA, Califano JV, Wang S, et al. Linkage disequilibrium of interleukin-1 genetic polymorphisms with early-onset periodontitis. J Periodontol. 1999;70(4):418-30.

54. Takashiba S, Naruishi K. Gene polymorphisms in periodontal health and disease. Periodontology 2000. 2006;40(1):94-106.

55. Jasinska A, Michlewski G, De Mezer M, Sobczak K, Kozlowski P, Napierala M, et al. Structures of trinucleotide repeats in human transcripts and their functional implications. Nucleic acids research. 2003;31(19):5463-8.

56. Nielsen R. Population genetic analysis of ascertained SNP data. Human genomics. 2004;1(3):1-7.

57. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology: Elsevier health sciences; 2011.

58. Kinane DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2003;14(6):430-49.

59. Mucci L, Björkman L, Douglass C, Pedersen N. Environmental and heritable factors in the etiology of oral diseases—a population-based study of Swedish twins. Journal of dental research. 2005;84(9):800-5.

60. Schork NJ, Fallin D, Lanchbury JS. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. Clinical genetics. 2000;58(4):250-64.

61. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. Nature. 2001;409(6822):928-34.

62. Guzeldemir E, Gunhan M, Ozcelik O, Tastan H. Interleukin-1 and tumor necrosis factor-α gene polymorphisms in Turkish patients with localized aggressive periodontitis. Journal of oral science. 2008;50(2):151-9.

63. Berdeli A, Emingil G, Gürkan A, Atilla G, Köse T. Association of the IL-1RN2 allele with periodontal diseases. Clinical biochemistry. 2006;39(4):357-62.

64. Zhang J, Sun X, Xiao L, Xie C, Xuan D, Luo G. Gene polymorphisms and periodontitis. Periodontology 2000. 2011;56(1):102-24.

65. Brodzikowska A, Górska R, Kowalski J. Interleukin-1 genotype in periodontitis. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis. 2019;67(6):367-73.

66. Holla LI, Fassmann A, Stejskalová A, Znojil V, Vaněk J, Vacha J. Analysis of the interleukin-6 gene promoter polymorphisms in Czech patients with chronic periodontitis. Journal of periodontology. 2004;75(1):30-6.

67. Emingil G, Han B, Gürkan A, Berdeli A, Tervahartiala T, Salo T, et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-8 and tissue inhibitor of MMP-1 (TIMP-1) gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis: gingival crevicular fluid MMP-8 and TIMP-1 levels and outcome of periodontal therapy. Journal of periodontology. 2014;85(8):1070-80.

68. Erciyas K, Pehlivan S, Sever T, Igci M, Pehlivan M, Arslan A, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms associated with periodontal diseases in Turkish adults. African Journal of Biotechnology. 2010;9(21):3042-7.

69. Gürkan A, Emingil G, Saygan BH, Atilla G, Köse T, Baylas H, et al. Renin–angiotensin gene polymorphisms in relation to severe chronic periodontitis. Journal of clinical periodontology. 2009;36(3):204-11.

70. Gürkan A, Emingil G, Saygan BH, Atilla G, Köse T, Baylas H, et al. Angiotensin-converting enzyme (ACE), angiotensinogen (AGT), and angiotensin II type 1 receptor (AT1R) gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis. archives of oral biology. 2009;54(4):337-44.

71. Pirhan D, Atilla G, Emingil G, Sorsa T, Tervahartiala T, Berdeli A. Effect of MMP-1 promoter polymorphisms on GCF MMP-1 levels and outcome of periodontal therapy in patients with severe chronic periodontitis. Journal of clinical periodontology. 2008;35(10):862-70.

72. Gürkan A, Emingil G, Saygan BH, Atilla G, Çınarcık S, Köse T, et al. Matrix metalloproteinase-2,-9, and-12 gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis. Journal of periodontology. 2007;78(12):2338-47.

73. Gürkan A, Emingil G, Saygan BH, Atilla G, Çınarcık S, Köse T, et al. Gene polymorphisms of matrix metalloproteinase-2,-9 and-12 in periodontal health and severe chronic periodontitis. archives of oral biology. 2008;53(4):337-45.

74. Keles GC, Gunes S, Sumer AP, Sumer M, Kara N, Bagci H, et al. Association of matrix metalloproteinase-9 promoter gene polymorphism with chronic periodontitis. Journal of periodontology. 2006;77(9):1510-4.

75. Gürkan A, Emingil G, Saygan BH, Çınarcık S, Atilla G, Köse T, et al. Tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. Journal of periodontology. 2007;78(7):1256-63.

76. Emingil G, Berdeli A, Gürkan A, Han Saygan B, Köse T, Atilla G. Gene polymorphisms of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in Turkish patients with generalized aggressive periodontitis. Journal of clinical periodontology. 2007;34(4):278-84.

77. Berdeli A, Gürkan A, Emingil G, Atilla G, Köse T. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism in periodontal diseases. Journal of periodontology. 2006;77(8):1348-54.

78. Atilla G, Emingil G, Köse T, Berdeli A. TGF-β1 gene polymorphisms in periodontal diseases. Clinical biochemistry. 2006;39(9):929-34.

79. da Silva MK, de Carvalho ACG, Alves EHP, da Silva FRP, Pessoa LdS, Vasconcelos DFP. Genetic factors and the risk of periodontitis development: findings from a systematic review composed of 13 studies of meta-analysis with 71,531 participants. International journal of dentistry. 2017;2017.

80. Weng H, Yan Y, Jin Y-H, Meng X-Y, Mo Y-Y, Zeng X-T. Matrix metalloproteinase gene polymorphisms and periodontitis susceptibility: a meta-analysis involving 6,162 individuals. Scientific Reports. 2016;6(1):1-9.

81. Silness J, Loe H. Periodontal Disease in Pregnancy. Ii. Correlation between Oral Hygiene and Periodontal Condtion. Acta Odontol Scand. 1964;22:121-35.

82. Muhlemann H. Gingival sulcus bleeding-a leading symptom in initial gingivitis. Helv Odontol Acta. 1971;15:107-13.

83. Beltran-Aguilar ED, Eke PI, Thornton-Evans G, Petersen PE. Recording and surveillance systems for periodontal diseases. Periodontol 2000. 2012;60(1):40-53.

84. Goode MR, Cheong SY, Li N, Ray WC, Bartlett CW. Collection and extraction of saliva DNA for next generation sequencing. Journal of visualized experiments: JoVE. 2014(90).

85. Küchler EC, Tannure PN, Falagan-Lotsch P, Lopes TS, Granjeiro JM, Amorim LMF. Buccal cells DNA extraction to obtain high quality human genomic DNA suitable for polymorphism genotyping by PCR-RFLP and Real-Time PCR. Journal of Applied Oral Science. 2012;20(4):467-71.

86. Lüleyap HÜ. Moleküler genetiğin esasları: Nobel Kitabevi; 2008.

87. Sorsa T, Gursoy UK, Nwhator S, Hernandez M, Tervahartiala T, Leppilahti J, et al. Analysis of matrix metalloproteinases, especially MMP-8, in gingival crevicular fluid, mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases. Periodontology 2000. 2016;70(1):142-63.

88. Räisänen IT, Heikkinen AM, Nwhator SO, Umeizudike KA, Tervahartiala T, Sorsa T. On the diagnostic discrimination ability of mouthrinse and salivary aMMP-8 point-of-care testing regarding periodontal health and disease. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2019;95(4):114871.

89. Hernández M, Baeza M, Contreras J, Sorsa T, Tervahartiala T, Valdés M, et al. MMP-8, TRAP-5, and OPG Levels in GCF Diagnostic Potential to Discriminate between Healthy Patients', Mild and Severe Periodontitis Sites. Biomolecules. 2020;10(11):1500.

90. Fatemi K, Rezaee SA, Banihashem SA, Keyvanfar S, Eslami M. Importance of MMP-8 in Salivary and Gingival Crevicular Fluids of Periodontitis Patients. Iranian Journal of Immunology. 2020;17(3):236-43.

91. Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. Journal of clinical periodontology. 1996;23(12):1127-32.

92. Soell M, Elkaim R, Tenenbaum H. Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. Journal of dental research. 2002;81(3):174-8.

93. Söder B, Airila Månsson S, Söder PÖ, Kari K, Meurman J. Levels of matrix metalloproteinases-8 and-9 with simultaneous presence of periodontal pathogens in gingival crevicular fluid as well as matrix metalloproteinase-9 and cholesterol in blood. Journal of periodontal research. 2006;41(5):411-7.

94. Nędzi-Góra M, Górska R, Górski B. Is the progression rate of periodontitis related to subgingival biofilm composition or gingival crevicular fluid IL-1β and MMP-8 concentrations? Central-European Journal of Immunology. 2020;45(4):425.

95. Longo PL, Dabdoub S, Kumar P, Artese HP, Dib SA, Romito GA, et al. Glycaemic status affects the subgingival microbiome of diabetic patients. Journal of clinical periodontology. 2018;45(8):932-40.

96. Arias-Bujanda N, Regueira-Iglesias A, Balsa-Castro C, Nibali L, Donos N, Tomás I. Accuracy of single molecular biomarkers in gingival crevicular fluid for the diagnosis of periodontitis: A systematic review and meta-analysis. Journal of clinical periodontology. 2019;46(12):1166-82.

97. Torrungruang K, Chantarangsu S, Sura T, Thienpramuk L. Interplay between vitamin D receptor FokI polymorphism and smoking influences Porphyromonas gingivalis proportions in subgingival plaque. Journal of clinical periodontology. 2020;47(8):912-20.

98. Lin Y, Liu J, Jin L, Jiang Y. Polymorphisms in matrix metalloproteinases 2, 3, and 8 increase recurrence and mortality risk by regulating enzyme activity in gastric adenocarcinoma. Oncotarget. 2017;8(62):105971.

99. Wang K, Zhou Y, Li G, Wen X, Kou Y, Yu J, et al. MMP8 and MMP9 gene polymorphisms were associated with breast cancer risk in a Chinese Han population. Scientific reports. 2018;8(1):1-7.

100. Näkki A, Rodriguez-Fontenla C, Gonzalez A, Harilainen A, Leino-Arjas P, Heliövaara M, et al. Association study of MMP8 gene in osteoarthritis. Connective tissue research. 2016;57(1):44-52.

101. Decock J, Long J-R, Laxton RC, Shu X-O, Hodgkinson C, Hendrickx W, et al. Association of matrix metalloproteinase-8 gene variation with breast cancer prognosis. Cancer research. 2007;67(21):10214-21.

102. Du J, Jin T, Cao Y, Chen J, Guo Y, Sun M, et al. Association between genetic polymorphisms of MMP8 and the risk of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in the population of northern China. Medicine. 2016;95(37).

103. Chou YH, Ho YP, Lin YC, Hu KF, Yang YH, Ho KY, et al. MMP-8-799 C> T genetic polymorphism is associated with the susceptibility to chronic and aggressive periodontitis in Taiwanese. Journal of clinical periodontology. 2011;38(12):1078-84.

104. Holla LI, Hrdlickova B, Vokurka J, Fassmann A. Matrix metalloproteinase 8 (MMP8) gene polymorphisms in chronic periodontitis. Archives of Oral Biology. 2012;57(2):188-96.

105. Majumder P, Ghosh S, Dey SK. Matrix metalloproteinase gene polymorphisms in chronic periodontitis: a case-control study in the Indian population. J Genet. 2019;98.

106. Brooks R, Kizer N, Nguyen L, Jaishuen A, Wanat K, Nugent E, et al. Polymorphisms in MMP9 and SIPA1 are associated with increased risk of nodal metastases in early-stage cervical cancer. Gynecologic oncology. 2010;116(3):539-43.

107. Chen Y-C, Wu Y-R, Mesri M, Chen C-M. Associations of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitory factor-1 polymorphisms with Parkinson disease in Taiwan. Medicine. 2016;95(5).

108. Zhou H, Zhu X. Association between matrix-metalloproteinase polymorphisms and prostate cancer risk: a meta-analysis and systematic review. Cancer management and research. 2018;10:5247.

109. Sun J-z, Yang X-x, Hu N-y, Li X, Li F-x, Li M. Genetic variants in MMP9 and TCF2 contribute to susceptibility to lung cancer. Chinese Journal of Cancer Research. 2011;23(3):183-7.

110. Saravani R, Yari D, Saravani S, Hasanian-Langroudi F. Correlation between the COL4A3, MMP-9, and TIMP-1 polymorphisms and risk of keratoconus. Japanese journal of ophthalmology. 2017;61(3):218-22.

111. Polonikov A, Rymarova L, Klyosova E, Volkova A, Azarova I, Bushueva O, et al. Matrix metalloproteinases as target genes for gene regulatory networks driving molecular and cellular pathways related to a multistep pathogenesis of cerebrovascular disease. Journal of cellular biochemistry. 2019;120(10):16467-82.

112. Li T, Zhang X, Sang L, Li X-t, Sun H-y, Yang J, et al. The interaction effects between TLR4 and MMP9 gene polymorphisms contribute to aortic aneurysm risk in a Chinese Han population. BMC cardiovascular disorders. 2019;19(1):1-11.

113. Costa CD, Teleginski A, Al-Lahham Y, Souza EM, Valdameri G, Alberton D, et al. Association of Polymorphism rs17576 of the Metalloproteinase 9 Gene with Gestational Diabetes in Euro-Brazilian Pregnant Women. Clin Lab. 2018;64(4):645-9.

114. Inoue H, Mashimo Y, Funamizu M, Yonekura S, Horiguchi S, Shimojo N, et al. Association of the MMP9 gene with childhood cedar pollen sensitization and pollinosis. Journal of human genetics. 2012;57(3):176-83.

115. Shaymardanova EK, Nurgalieva AK, Khidiyatova I, Gabbasova L, Kuramshina O, Kryukova AY, et al. Role of allelic genes of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in the risk of peptic ulcer disease development. Russian Journal of Genetics. 2016;52(3):320-30.

116. Romualdo PC, Pucinelli CM, Tannure PN, Nelson-Filho P, Segato RAB, Brancher JA, et al. Evaluation of genetic polymorphisms in MMP2, MMP9 and MMP20 in Brazilian children with dental fluorosis. Environmental toxicology and pharmacology. 2019;66:104-8.

117. Ritter AM, de Faria AP, Barbaro NR, Sabbatini AR, Corrêa NB, Brunelli V, et al. The rs243866/243865 polymorphisms in MMP-2 gene and the relationship with BP control in obese resistant hypertensive subjects. Gene. 2018;646:129-35.

118. Chen D, Wang Q, Ma ZW, Chen FM, Chen Y, Xie GY, et al. MMP-2, MMP-9 and TIMP-2 gene polymorphisms in Chinese patients with generalized aggressive periodontitis. J Clin Periodontol. 2007;34(5):384-9.

119. Holla LI, Fassmann A, Muzik J, Vanek J, Vasku A. Functional polymorphisms in the matrix metalloproteinase-9 gene in relation to severity of chronic periodontitis. J Periodontol. 2006;77(11):1850-5.

120. Li W, Zhu Y, Singh P, Ajmera DH, Song J, Ji P. Association of Common Variants in MMPs with Periodontitis Risk. Dis Markers. 2016;2016:1545974.

121. Isaza-Guzmán DM, Arias-Osorio C, Martínez-Pabón MC, Tobón-Arroyave SI. Salivary levels of matrix metalloproteinase (MMP)-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP)-1: A pilot study about the relationship with periodontal status and MMP-9− 1562C/T gene promoter polymorphism. Archives of Oral Biology. 2011;56(4):401-11.

122. Pan Y, Li D, Cai Q, Zhang W, Ma J, Wang M, et al. MMP-9 -1562C>T contributes to periodontitis susceptibility. J Clin Periodontol. 2013;40(2):125-30.

123. Li G, Yue Y, Tian Y, Wang M, Liang H, Liao P, et al. Association of matrix metalloproteinase (MMP)-1, 3, 9, interleukin (IL)-2, 8 and cyclooxygenase (COX)-2 gene polymorphisms with chronic periodontitis in a Chinese population. Cytokine. 2012;60(2):552-60.

124. Hsiao Y-F, Yang L-C, Chou Y-S, Ho Y-P, Lin Y-C, Ho K-Y, et al. Matrix metalloproteinase-2,-9, and tissue inhibitor of MMP-2 gene polymorphisms in Taiwanese periodontitis patients. Journal of dental sciences. 2016;11(4):411-8.

125. Loo WT, Wang M, Jin L, Cheung MN, Li G. Association of matrix metalloproteinase (MMP-1, MMP-3 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 gene polymorphisms and their proteins with chronic periodontitis. Archives of Oral Biology. 2011;56(10):1081-90.

126. Rehak NN, Cecco SA, Csako G. Biochemical composition and electrolyte balance of" unstimulated" whole human saliva. 2000.

127. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple IL. Dental plaque–induced gingival conditions. Journal of clinical periodontology. 2018;45:S17-S27.

128. Wu X, Offenbacher S, López N, Chen D, Wang HY, Rogus J, et al. Association of interleukin-1 gene variations with moderate to severe chronic periodontitis in multiple ethnicities. Journal of periodontal research. 2015;50(1):52-61.

EKLER

EK 1

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun ……..tarih ve ……. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** MMP-9 ve MMP-8 gen polimorfizmlerinin Periodontitis ile ilişkisi
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Periodontitis hastalarının genlerindeki değişmelerin hastalık üzerine etkisinin araştırılması
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Bülend İnanç – Trakya üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı
- **Araştırmanın amacı:** Periodontitis hastalarının teşhisini ve tedavisini daha etkili ve erken dönemde yönetmektir.
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Uzmanlık Tezi
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** 01.09.2020-12 ay
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 200
- **Araştırma sırasında uygulanacak olan invaziv yöntemler dahil olmak üzere gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Siz hastamıza çalışmamıza dahil olduğunuz gün ağız aynası ve periodontal sond (dişetinde ölçüm amaçlı kullanılan muayene aleti) ile ağız içindeki yıkım miktarını tespit edebilmek için ağız içi ölçümleriniz yapılacak hem de ağız içi fotoğraflarınız alınacaktır. Sonrasında ilaçlı bir tüpün (5ml) içine tükürmeniz istenecektir. Bu tükürükten genetik materyal, DNA elde edilecektir. Bu aşamada başarısız olunduğunda bir kez daha tükürük vermeniz istenebilir. İşlem sırasında lokal anestezi yapılmayacaktır. Sonrasında 2ml kan vermeniz istenecektir. Tükürük veya kan alınamadığı durumlarda biyolojik örneğin bulunabileceği yanak içinden alınan az bir miktarda sürüntü gibi örnek almamız gerekebilir. Eğer size bu hastalığın düzeltilmesine yönelik cerrahi bir girişim uygulanacaksa bu işlem sırasında zaten çıkarılacak olan doku bu araştırma açısından da incelenebilir.

- **Araştırmanın deneysel kısımları:**
  Alınacak olan tükürük az miktarı ilaçlı bir tüpe konularak kan örneğinizle beraber Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilimdalı Moleküler Biyofizik Laboratuarı'na götürelecektir. Tükürük örneğinde genlerinizin kalitesi cihaz yardımıyla ölçülecek ve periodontitis hastalığınıza sebep olduğu düşünülen bir genin ne şekilde farklılık gösterdiği belirlenecektir.
- **Farklı uygulama ve girişimler için gönüllülerin araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı:** Yok
- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Araştırma için Periodontitis tanısı konulmuş ve konulmamış hastalardan alınan örneklere ihtiyaç vardır. Bu sebeple araştırmaya dahil edilmektesiniz.
- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın size doğrudan bir faydası yoktur. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.
- **Gönüllünün sorumlulukları:** Size verilen kaba tükürmeden önce ağzınızı temiz bir su ile 1 dakika boyunca çalkalamanızdır. Tükürdükten sonra kabın kapağını kendiniz kapatmanızdır.
- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Tükürük alma işlemiyle herhangi bir tanımlanmış risk bulunmamaktadır. Az bir ihtimalle yanak içinden alınacak sürüntü örneği sonrası enfeksiyon gözlenebilir. Kolunuzdan kan alındıktan sonra geçici olarak morarma görülebilir. Başka herhangi bir risk yoktur.
- **Risklere karşı alınan önlemler:** Kişisel verilerin gizliliği ilkesine sağdık kalınması dışında başka bir önlem alınmamıştır.
- **Gönüllüye alternatif olarak uygulanabilecek olan diğer yöntemler ve bunların olası yarar ve zararları:** Size alternatif olarak uygulanabilecek diğer yöntem olmadığından herhangi yarar ve zarar söz konusu olmayacaktır.
- **Araştırmaya bağlı olarak bir zarar oluştuğunda verilecek tazminat ve sağlanacak tedaviler:** Araştırmaya bağlı olarak herhangi bir zarar görmeniz mümkün değildir.
- **Gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler:** Herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.
- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Kendi isteğiniz dışında, araştırmaya katılımınızın sona erdirilmesini gerektirecek herhangi bir durum yoktur.
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Araştırma sonunda herhangi bir bilgi verilmeyecektir.
- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:** Araştırma hakkında, kendiniz hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinmek isterseniz 535 765 99 60 numaralı telefonu arayarak Nevin KIRBIYIK'tan bilgi edinebilirsiniz.
- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:**
  Sizden istenilen kaba tükürmenizin ardından verdiğiniz tükürük ya da herhangi bir ihtiyaç olduğunda verdiğiniz kan da kullanılarak elde edilecek genetik materyal, DNA birtakım işlemlerden geçirilip içindeki 2 adet genin diş etinizi sağlık açısından kötü

etkileyen bir hastalık olan Periodontitis hastalığında ne şekilde farklılık göstereceği belirlenecektir.

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanmayacağı; araştırma sonuçlarının bilimsel toplantılarda sunulabileceği ya da yayınlanabileceği, ancak, bu tür durumlarda kimliğimin kesin olarak gizli tutulacağı bana açıklandı.

Araştırma konusuyla ilgili olarak, çalışmaya devam etme isteğimi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde bana ya da yasal temsilcime zamanında bilgilendirme yapılacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

- ***Gönüllünün; (El yazısı ile)***

Adı- Soyadı:
İmzası:
Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):
.....
.....
Tarih:

- ***Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)***

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:
İmzası:
Tarih:
Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):
.....
.....
Tarih:

- ***Açıklamaları yapan araştırmacının***

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)
Görev yaptığı bölüm:
İmzası:
Tarih:

EK 2

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI HASTA MUAYENE FORMU

Adı-Soyadı:……. Tarih:……..
Yaşı:…… Cinsiyeti:…….
Öğrenim Durumu:…… Mesleği:……...
Adres ve Tel:.....
……...
SİSTEMİKBULGULAR:……...…
…….....

DENTAL HİKAYE

Esas şikayeti:…….
Diş hekimine gitme sıklığı:……...
En son diş hekimi ziyareti-nedeni:……
Diş fırçalama sıklığı/yöntemi:……...
Diş ipi kullanma sıklığı:……
Uygulanan operasyonlar, restoratif işlemler, periodontal tedaviler:……
……..
Dişeti hastalığının varlığına ilişkin farkındalık: hayır:…… evet:……
Dişeti hastalığı bulgusu:

- ☐ Ağız kokusu
- ☐ Dişeti çekilmesi
- ☐ Termal uyaranlara karşı hassasiyet
- ☐ Dişetinde kanama
- ☐ Dişlerde sallanma(mobilite)
- ☐ Dişeti büyümesi
- ☐ Diş gıcırdatma
- ☐ Çene eklemlerinde problem
- ☐ Dişler arasında gıda birikimi

ALIŞKANLIKLAR:

- ☐ Kahve-çay
- ☐ Alkol
- ☐ Sigara
- ☐ Gazlı içecek tüketimi
- ☐ Aşırı tatlı tüketimi
- ☐ Tırnak yeme
- ☐ Diş sıkma-gıcırdatma
- ☐ Kalem ısırma
- ☐

Diğer……

EKSTRAORAL MUAYENE:(Baş boyun bölgesi, lenf nodları,TME,sinüs,vb.):……...
…….....

İNTRAORAL MUAYENE: (Mukozalar, dil, orofaringeal bölge, ağız tabanı, yumuşak damak, vb.).....
Ağız kuruluğu: yok var/etken…….

DENTAL MUAYENE:

Ağızdaki mevcut diş sayısı:……..
Diş çekimi nedenleri: periodontal…… diğer:.....
Ortodontik – okluzal sorunlar: yok var……...
Abrazyon – atrizyon –erozyon(varlığı-etkeni): yok var (etken)……...
Perküsyonda hassasiyet: yok var……...
Soğuk- sıcak hassasiyeti: yok var……...

RADYOLOJİK MUAYENE:

İnterproksimal kemik yüksekliği: normal…… azalmış……..
Kemik kaybının tipi- lokalizasyonu:……
Periodontal ligament genişliği: normal…… bozulmuş……...
Okluzal travma bulguları: yok…… var/bölgesi……...
Dental implant varlığı: yok…… var/bölgesi……...

	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7
Sondlanabilir Periodontal Cep Derinliği														
Gingival İndeks														
Plak İndeksi														
Sondlamada Kanama														
Sondlanabilir Ataşman Kaybı														
Dişeti Çekilmesi														

TEŞHİS:…….

Uygulanan tedaviler	**Tarih**	**İMZA**
1……	**……**	**……..**
2……	**……**	**……..**
3……	**……**	**……..**
4……	**……**	**……..**

Sorumlu Öğretim Üyesi

EK 3

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2020/223	
	PROTOKOL ADI	MMP-9 ve MMP-8 Gen Polimorfizmlerinin Periodontitis ile İlişkisi	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof. Dr. Bülend İNANÇ	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:15/13**		**Tarih:12.07.2021**
	Üniversitemiz Diş Hekimliği Faktültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bülend İNANÇ'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. Nevin KIRBIYIK'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.	
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Dr. Öğr. Üyesi Fatma Gülsüm ÖNAL Başkan	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Hakan GÜRKAN Başkan Yardımcısı	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Selçuk KORKMAZ Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. BiyoistatistikA.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Mehmet Erdal VARDAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	**E H**	**E H**	
Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Galip EKUKLU Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Filiz TÜTÜNCÜLER KÖKENLİ Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E H	E H	
Öğr. Gör. Dr. Sinan ATEŞ Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Burhan Can ÇANAKÇI Üye		T.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E	E H	E H	
Doç. Dr. Hilal KEKLİCEK Üye		T.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi	K	E H	E H	
Avukat Emine NURLU Üye		T.Ü. Rektörlüğü	K	E H	E H	
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet FEZEL
Dekan a.
Dekan Yrd.