T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİGARA KULLANIMININ KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA DİŞETİ OLUĞU SIVISI MMP-2 ve MMP-9 DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Dt. Şükran Burcu YİĞİT

DOKTORA TEZİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Mihtikar GÜRSEL

KONYA-2010

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİGARA KULLANIMININ KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA DİŞETİ OLUĞU SIVISI MMP-2 ve MMP-9 DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Dt. Şükran Burcu YİĞİT

DOKTORA TEZİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Mihtikar GÜRSEL

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 07202026 proje numarası ile desteklenmiştir

KONYA-2010

ii.ÖNSÖZ

Projemizi desteklediği için Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne;

Çalışmamızın biyokimyasal analizlerinde emeği geçen, S.Ü Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Seyfullah Haliloğlu'na;

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Tamer Ataoğlu'na, Prof. Dr. Mihtikar Gürsel'e, Prof. Dr. Nilgün Ö. Alptekin'e, Prof. Dr. İsmet Duran'a, Prof. Dr. İsmail Marakoğlu'na ve Doç. Dr. Sema S. Hakkı'ya;

Doktara eğitimim süresince bana hep güvenen, maddi-manevi yardımlarını esirgemeyen eşim Dt. Mehmet İlker Yiğit'e ve aileme;

Her zaman yanımda olan dostlarım Dr. Renan Endoğru ve Müge Kamacı'ya;

Bölümdeki tüm arkadaşlarıma;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

iii.İÇİNDEKİLER Sayfa

KISALTMALAR V

1.GİRİŞ 1

1.1. Peridontal Hastalık 1

1.2. Periodontitis Etiyolojisi ve Patogenezi 2

1.3. Periodontal Hastalıkta Konak Cevabı 4

1.4. Periodontal Hastalıkta Risk Faktörleri 5

1.4.1. Risk Faktörleri 5

1.4.2. Risk Determinantları 5

1.4.3. Risk İndikatörleri 5

1.4.4. Risk Belirteçleri 6

1.5. Sigara.. 6

1.5.1. Sigara ile Gelişen Patolojik Durumlar 6

1.5.2. Sigara ve Periodontal Hastalık 7

1.5.3. Sigara İçme Miktarı ve Periodontal Hastalık 8

1.5.4. Sigara İçme Yaşı ve Periodontal Hastalık 8

1.5.5. Sigara ve Konak Cevabı 9

1.5.6. Sigara ve Periodontal Mikrobiyoloji 10

1.6. Matiks Metalloproteinazlar 11

1.6.1. Matrix Metalloproteinaz Aktivitesi 15

1.6.2. Matrix Metalloproteinazların Aktivasyonu 16

1.6.3. Jelatinaz A, B (MMP-2, MMP-9) 19

1.7. Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS) 21

2. GEREÇ ve YÖNTEM 24

2.1. Çalışma Grubu 24

2.2. Periodontal Değerlendirme 25

2.2.1. Sondlama Cep Derinliği 25

2.2.2. Klinik Ataşman Seviyesi 25

2.2.3. Modifiye Silness-Löe Plak İndeksi 25

2.2.4. Gingival İndeks 25

2.3. Örnek Alınacak Dişlerin Tespiti 26

2.4. DOS Örneklerinin Değerlendirilmesi 26

2.5. Cerrahisiz Periodontal Tedavi 27
2.6. DOS MMP-2 ve MMP-9 Düzeylerinin Belirlenmesi 27
2.6.1.Yöntemin Prensibi 27
2.6.2. Biyokimyasal Değerlendirme 27
2.7. Verilerin İstatistiksel Analizi 30
3. BULGULAR 31
3.1. Klinik Bulgular 31
3.2. Örnek Alınacak Dişle İlgili Klinik Bulgular 32
3.2.1. Sondlama Cep Derinliği 32
3.2.2. Klinik Ataşman Seviyesi 33
3.2.3. Plak İndeksi Skorları 35
3.2.4. Gingival İndeks 36
3.2.5. DOS Hacmi 38
3.3. Biyokimyasal Bulgular 39
3.3.1. MMP-2 Konsantrasyon Bulguları 39
3.3.2. MMP-2 Total Miktar Bulguları 41
3.3.3. MMP-9 Konsantrasyon Bulguları 43
3.3.4. MMP-9 Total Miktar Bulguları 45
4.TARTIŞMA 48
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 54
6. ÖZET..... 55
7. SUMMARY 56
8. KAYNAKLAR 57
9. ÖZGEÇMİŞ 63

v.SİMGELER VE KISALTMALAR

A.actinomycetemcomitans: Aggregatibacter actinomycetemcomitans

AgP: Agresif periodontitis

AIDS: Acquired immuno deficiency syndrome " Kazanılmış immün yetmezlik sendromu"

AMP: Adenozin monofosfat

APMA: 4-Aminphenyl mercuric acetate

Ca^{++}: Kalsiyum

C. rectus: Camphylobacter rectus

dk: Dakika

DOS: Dişeti oluğu sıvısı

E. corrodens: Eikenella corrodens

ELISA: Enyme Linked-Immuno-Sorbent Assay

E. nodatum: Eubacterium nodatum

FIB-K: Fibroblast tip kollajenaz

F. nukleatum: Fusobacterium nucleatum

Gİ: Gingival indeks

GKP: Generalize kronik periodontitis

GSSG: Oxidized glutathione

HIV: Human Immuno Deficiency Virus "İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü"

HRP: Horseradish peroxidase

IgA: Immunglobulin A

IgG: Immunglobulin G

IgG_2: Immunglobulin G_2

KAS: Klinik ataşman seviyesi

kDa: Kilodalton

KP: Kronik periodontitis

M: Molarite

Maks: Maksimum

Med: Median

Min: Minimum

mg: Miligram

ml: Mililitre

mm: milimetre

mm-Hg: milimetre-civa

MMP: Matrix metalloproteinase

MT-MMP: Membran tip matrix metalloproteinase

µl: Mikrolitre

ng: nanogram

$PGE_{2:}$ Prostaglandin E_2

P.gingivalis: Porphyromonas gingivalis

pH: Power of hydrogen "hidrojenin gücü"

Pİ: Plak indeksi

P. intermedia: Prevotella intermedia

P. micros: Peptostreptococcus micros

PMNL-KL: Polimorfonükleer lökosit tip kollajenaz

P. nigrescens: Prevotella nigrescens

SCD: Sondlama cep derinliği

S. intermedia: Streptococcus intermedia

SKİ: Sondlamada kanama indeksi

SPSS: Statistical Package for Social Sciences for Windows

T. denticola: Terponema denticola

T. forsythia: Tannarella forsythia

TIMP: Tıssue inhibitor of matrix metalloproteinase

TMB: Tetrametilbenzidin

Zn^{++}: Çinko

1.GİRİŞ

Periodontitis dişleri çevreleyen destek dokuların mikroorganizmalara karşı oluşturdukları lokalize enflamatuvar reaksiyonlarla başlayıp cep oluşumu ve/veya dişeti çekilmesi ve alveoler kemik kaybı gelişen, sonrasında da dişlerin kaybı ile sonuçlanabilen enfeksiyöz bir hastalıktır (Lindhe ve Ericsson 1978, Slots 1979, Loesche ve ark 1985).

1.1. Periodontal Hastalık

Periodontitis, dişeti kenarında başlayan enflamasyonun destek periodontal dokulara yayılarak periodontal ataşman ve alveoler kemik yıkımı ile sonuçlanan enfeksiyöz bir hastalıktır (Novak 2002). Periodontitisin gelişmesinde pek çok etken rol alır, primer etiyolojik etken mikrobiyal plak bakterileri ve onların ürünleridir. Ancak hastalığın gelişmesi ve ilerleyebilmesi için konak savunma sistemi de önemli bir etkendir. Konak savunma sistemi hücreleri, mikrobiyal dental plak ve ürünleri ile karşılaştığında doku yıkıcı ve koruyucu mekanizmalar aynı anda harekete geçer (Cosyn ve Sabzevar 2005).

Periodontal hastalıkların başlamasında ve ilerlemesinde plak ve konak savunma sistemine ilaveten bazı lokal ve sistemik risk faktörlerinin de etkisi vardır. Günümüzde periodontitis; etiyolojisinde çevresel ve genetik faktörler gibi birçok etkenin rol aldığı "multifaktöriyel" veya "eko-genetik" bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Periodontal hastalıkta histopatolojik olarak; periodontal cep oluşumu, birleşim epitelinin mine sement sınırının daha apikalinde konumlandığı, dişin çevresindeki kollajen dokuda yıkım ve kemik kaybı gözlenir. Birleşim ve cep epitelinde çok sayıda polimorfonükleer lökosit (PMNL)'ler, lenfositler, makrofajlar ve plazma hücreleri bulunmaktadır. Periodontal hastalık oluşmasında en önemli etken bakteriyel dental plaktır. Dental plak; diş yüzeyine tutunmuş kompleks yapılı içinde pek çok mikroorganizmanın bulunduğu mikrobiyal biyofilmdir. Dental plakta bulunan en önemli periodontopatojenler *Porphyromonas gingivalis (P.gingivalis), Aggregatibacter actinomycetemcommitans (A. actinomycetemcommitans), Tannerella forsythia (T.forsythia), spiroketler, Prevotella intermedia (P.intermedia), Camphylobacter rectus (C. rectus), Eubacterium nodatum (E.nodatum), Treponema denticola (T.denticola), Streptococcus intermedia (S.intermedia), Prevotella nigrescens (P.nigrescens), Peptostreptococcus micros (P.micros), Fusobacterium*

nucleatum (F.nucleatum) ve Eikenella corrodens (E.corrodens)'dir (Flemmig 1999, Haake 2002).

Amerikan Periodontoloji Akademisi 1999 yılında periodontitisi, kronik (KP), agresif (AgP) ve sistemik hastalığa bağlı olarak gelişen periodontitis olarak üç grupta sınıflandırmıştır (Armitage 1999).

1.2. Periodontitis Etiyolojisi ve Patogenezi

Periodontitis ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda; hastalığın kullanılmama atrofisi, okluzal travma, yapısal bir defekt ya da bunların bir kısmının birlikte bulunmasından kaynaklandığı, mikroorganizmaların ise periodontal doku yıkımına sonradan dahil oldukları veya katkı sağladıkları kabul ediliyordu. Ancak yapılan tedavilerden istenilen sonuçların alınamaması ve klinisyenlerin periodontal hastalığın tedavisinin başarısında plak kontrolünün çok önemli olduğunu fark etmeleri ile mikroorganizmaların periodontal hastalığın etiyolojisindeki önemi anlaşılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda iki plak hipotezi ortaya atılmıştır. Dental plak içeriğinde bulunan tüm mikroorganizmaların eşit oranda periodontal hastalığa sebep olabildiğini ve periodontitisin dental plak miktarının artışı ile ilişkili olduğunu kabul eden "non-spesifik plak hipotezi" 1900'lü yılların ortalarında ortaya atılmıştır. Bu hipoteze göre, vücut az miktardaki plaktan salınan zararlı ürünlere karşı koyabilmekte, plak miktarı ve buna bağlı olarak ortaya çıkan zararlı ürünler arttıkça vücut savunması yetersiz kalmakta ve periodontal hastalık gelişmektedir (Loesche 1976). Ancak dişlerinde diştaşı ve mikrobiyal dental plak yoğunluğu fazla olan bazı bireylerde gingivitisin periodontitise dönüşmemesi ve periodontitis teşhisi konulmuş kişilerde, bazı dişlerde şiddetli ataşman kaybı olurken bazı dişlerin etkilenmemesi bu hipotezle çelişmiştir. Bu nedenle patojenitenin; mikrobiyal plağın içinde bulunan birtakım spesifik mikroorganizmaların varlığına ve bunların sayılarının artmasına bağlı olduğunu ileri süren "spesifik plak hipotezi" ortaya atılmıştır (Loesche 1976). Uzun dönemli bir takip çalışmasında periodontal hastalığın, sabit bir hızla ilerlemediği, benzer plak ve diştaşı varlığında bile farklı kişilerde, farklı hızlarla devam ettiği bildirilmiştir (Löe ve ark 1986). Bakteri plağına daha şiddetli cevap veren bireylerde; periodontal indeksler ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) miktarları bakteriyel atağa daha az cevap veren bireylere göre daha yüksek bulunmuştur (Tatakis ve Trombelli 2004 b). Periodontal hastalığın pek çok formuna dental plak biofilmindeki mikroorganizmalar neden olmaktadır. Gingival enflamasyonun, non-

spesifik plak birikimi ile ilişkili olmasına rağmen, ataşman kaybının spesifik subgingival bakteri türlerinin küçük bir grubu ile ilişkili olduğu desteklenmektedir (Haffajee ve Socransky 1994, Ezzo ve Cutler 2003). Ancak bu periodontopatojenlerin olduğu pek çok bireyde periodontal yıkım görülmez (Loomer 2004). Periodontal hastalığa yatkınlık mikroorganizma, konak savunması ve çevresel faktörler arasındaki dengeye bağlı olarak gelişir. Periodontal hastalığa yatkınlığı etkileyebilecek en önemli çevresel faktör supragingival plaktır. Supragingival plağın uzaklaştırılması ile gingivitiste azalma gözlenir (Seymour ve Taylor 2004). Periodontal hastalık patogenezinde mikroorganizmalar konak savunmasını engelleyecek virülansa sahipse veya hastada nötrofil fonksiyonlarında yetersizlik varsa, konak cevabı ile bakteriyel atak arasındaki etkileşim, doku yıkımı ile sonuçlanır. Periodontal hastalık patogenezinde, nötrofil cevabının veya antijen-antikor ilişkisinin oluşmasında, bağ dokusu ve kemik metabolizmasının düzenlemesinde çevresel, kazanılmış ve genetik risk faktörlerinin de önemli bir yeri vardır (Haake 2002).

Periodontal hastalığın gelişmesinde lokal ve sistemik risk faktörleri rol oynamaktadır. Bunlardan lokal risk faktörleri, iyi temizlenemeyen restorasyonlar, kürdan kullanımı, tırnak ile itme ve tütün çiğneme gibi alışkanlıklar, diş fırçası travması, aşırı ortodontik kuvvetler ve oklüzyona ait veya anatomik problemlerin oluşturduğu periodontal ceplerdir. Sistemik risk faktörleri ise metabolik, immün ve hormonal düzensizliklere bağlı hastalıklar ve sigaradır (Novak ve Novak 2002)**.** Sigaranın periodontal dokular üzerine olan zararlı etkilerini hangi mekanizma veya mekanizmalar ile gerçekleştirdiği günümüzde hala tam olarak bilinmemektedir. Ancak, sigaranın mikrobiyal dental plak miktarı üzerine dolaylı olarak bir etkisinin olabileceği ve subgingival plak üzerine etkili olamayacağı bildirilmektedir. Sigaranın içindeki nikotin gibi bazı zararlı maddeler konak savunma sistemi üzerine etkilidir (Johnson ve Hill 2004).

Hastalık patogenezinde rol oynayan bakteriler ve ürünleri periodontal dokularda belirli bir düzeye ulaştığında ve nötrofiller ve diğer savunma hücreleri bu tehdide karşı koyamadığında doku yıkımı ile sonuçlanan pek çok olay başlar. Bu olayların büyük bir kısmından sitokinler sorumludur. Sitokinler enflamasyonda rol oynayan biyokimyasal moleküllerdir. Bu moleküller, periodontal dokulardaki diğer hücreleri uyararak, kemik yıkımına neden olan prostoglandin (PG)E_2 ve bağ dokusu

yıkımından sorumlu matriks metalloproteinaz (MMP)'ların yapımını arttırır (Birkedal 1993).

1.3. Periodontal Hastalıkta Konak Cevabı

Klinik araştırmalar sonucu, plak miktarları benzer düzeyde olan bireylerin benzer cevaplar vermediği ortaya çıkmıştır. Plak birikiminin çok az olmasına karşın şiddetli periodontitis teşhisi konulan bireyler olduğu gibi, plak yoğunluğu artışı ile birlikte çok az ataşman kaybı gözlenen bireyler de mevcuttur (Löe ve ark 1986).

Bireylerin aynı miktardaki plağa karşı verdikleri farklı cevapları incelemek için deneysel gingivitis yönteminin kullanıldığı Tatakis'in bir çalışmasında 96 bireye 21 gün boyunca tek taraflı fırçalama önerilmiş ve fırçalanmayan bölgede; birer hafta arayla plak indeksi (Pİ), gingival indeks (Gİ), DOS miktarı ve sondlamada kanama indeksi (SKİ) parametreleri değerlendirilmiştir. Araştırmanın sonucunda; bir grup bireyin plak birikimine diğerlerinden daha şiddetli cevap verdikleri gözlenmiştir. Aynı çalışmada bireyler şiddetli ve düşük şiddette cevap verenler olarak iki grup halinde değerlendirilmiştir. Her iki grup arasında yaş ve cinsiyet açısından fark bulunamamıştır. Plak yoğunluğu açısından da gruplar arasında fark olmadığı belirlenmiştir. Araştırmanın sonucunda; benzer miktardaki plak düzeyine karşı farklı cevaplar gözlenen bireylerin diğerlerine göre plak birikimine karşı daha duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Dişeti oluğu sıvısı miktarları göz önüne alındığında plak birikimine düşük şiddette cevap veren grubun 14 günden sonra değişmediği, şiddetli cevap veren grubun ise DOS miktarlarının giderek artarak 21. günde en üst düzeye ulaştığı saptanmıştır (Tatakis ve Trombelli 2004 a). Löe ve ark (1986) ağız hijyen alışkanlığı bulunmayan ve dişlerinde benzer miktarda plak ve diştaşı bulunan 14-46 yaşları arası Sri Lankalı erkekleri 15 yıl boyunca takip etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda hastalığın sabit bir hızda ilerlemediği, %8'lik bir grupta yılda 0.1-1 mm ataşman kaybı olduğu gözlenmiş ve bu grup hastalığın hızlı ilerlediği grup olarak tanımlanmış, %81'inin yılda yaklaşık olarak 0.05-0.5 mm ataşman kaybı gösterdiği görülmüş ve bu grup da hastalığın orta hızda ilerlediği grup olarak tanımlanmıştır. Kalan %11 hasta grubunda ise yılda sadece ortalama 0.05-0.09 mm ataşman kaybı saptanmış ve hastalığın ilerlemediği grup olarak belirlenmiştir.

Bu yapılan çalışmalar sonucunda, periodontal hastalıklarda sadece çevresel faktörlerin etkisiyle değil bireysel genetik faktörlerin de etkili olduğu gösterilmiştir.

1.4. Periodontal Hastalıkta Risk Faktörleri

Risk, bir bireyin verilen bir süre içerisinde belirli bir hastalığa yakalanma olasılığıdır. Hastalığı geliştirme olasılığı bireyden bireye farklılık gösterir. Bireyin hastalığı geliştirmesi ihtimalini arttıran çevresel, davranışsal ve biyolojik faktörlere "risk faktörleri" denmektedir. İlgili hastalık üzerine yapılan uzun dönem takip çalışmaları ile risk faktörleri belirlenmektedirler. Bir faktörün risk faktörü olduğunun söylenebilmesi için hastalığın meydana gelişinden önce bireyin buna maruz kalması gerekmektedir. Değiştirilemeyen risk faktörlerine "risk determinantları" denilmektedir. Kesitsel ("cross sectional") çalışmalarda belirlenmiş ancak, uzun dönem ("longutidunal") takip çalışmalarla doğrulukları kanıtlanmamış muhtemel risk faktörlerine ise "risk indikatörleri" adı verilmektedir. Kesitsel veya uzun dönem takip çalışmaları ile belirlenmiş, kendi başına hastalığa yol açmayan fakat riski arttıran faktörlere ise risk belirteçleri "risk prediktörleri veya markırları" denir (Novak ve Novak 2002). Bunlar aşağıda özetlenmiştir.

1.4.1. Risk Faktörleri:

1) Sigara kullanımı
2) Diabet
3) Patojenik bakteriler
4) Mikrobiyal birikintiler

1.4.2. Risk Determinantları:

1) Genetik faktörler
2) Cinsiyet
3) Sosyoekonomik durum
4) Yaş
5) Stres

1.4.3. Risk İndikatörleri:

1) İnsan immünyetmezlik virüsü "Human immuno deficiency virus'' (HIV) ve kazanılmış immün yetmezlik sendromu "Acquired immuno deficiency syndrome'' (AIDS)
2) Osteoporoz
3) Dişhekimine gitmeme

1.4.4. Risk Belirteçleri:

1) Periodontal hastalık hikayesi
2) Sondlamada kanama

1.5. Sigara

Tütün, yüzyıllardır kullanılan ve insanlara keyif veren bir maddedir. En yaygın kullanım şekli sigara olsa da puro, pipo, nargile gibi pek çok şekilde tüketilmektedir. Sigarada yaklaşık 4000 adet kimyasal madde bulunmaktadır. Bunların en zararlıları nikotin ve katrandır. Bunun haricinde 55 tane kimyasal madde Uluslararası Kanser Araştırmaları Merkezi tarafından kanserojen olarak bildirilmiştir. Bu kimyasallardan nikotin ve katran haricinde en çok araştırılanlar karbon monoksit, tiosiyonat, 4-(metilnitrozamino)-1-(3-pyridyl)-1-butan, inter alia, N-nitrozaminler, radyoaktif polonium, çeşitli polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve benzen bileşikleridir (Kuper ve ark 2002).

Bir adet sigaranın içinde bulunan ortalama 1-3 mg'lık nikotin, nöromüsküler bileşkede asetilkolin salınımına neden olur. Asetilkolin ise postsinaptik nikotin reseptörlerine etki ederek kaslarda kasılmaya neden olur. Sempatik ve parasempatik otonom nodlar üzerinde etki ile noradrenalin ve surrenal katekolaminlerin salgılanmasını arttırır. Sempatik sinir sistemini etkilemesi ile kalp ritminde 10-20/dk artış, arter kan basıncında 5-10mmHg artış, kardiak debide, koroner kan akımında ve koroner damar rezistansında artış ortaya çıkar. Düşük dozlarda nikotin karotis ve aorttaki kemoreseptörleri etkileyerek solunumu stimüle eder. Yüksek dozlarda beyindeki bülber merkezi (beyin sapı) baskılar, plazmadaki vazopressin, büyüme hormonu, kortizol ve adrenokortikotrofik hormon düzeylerini yükseltir. Parasempatik sinir sistemine etkisi ile yüksek dozlarda mide bulantısı, kusma ve mide Ph'sında düşme görülür. Barsak tonusu üzerine olan etkisi ile bu organın motilitesi artar. Merkezi açlık hissini baskılayan "anoreksijen" etkisi ve bazal metabolizmayı yükseltici etkisi vardır (Aykut 2000).

1.5.1. Sigara ile Gelişen Patolojik Durumlar

Sigaranın kanser, düşük doğum ağırlığı, akciğer hastalıkları ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi vardır. Nikotinin düzenli tüketimi ile aterosikleroz artar. Trombositlerin ve fibrinojenin artışıyla kan vizkositesi artar bu da daralan damarlarda kan akımını azalmasına ve damarların tıkanmasına neden olur

(Johnson ve Hill 2004). Akut nikotin zehirlenmesi “intoksikasyonu”; fenalık hissi, bulantı, kusma, karın ağrısı, baş ağrısı, duyu bozuklukları, diyare, konvülsiyonlar ve mental konfüzyona sebep olur. Kronik durumda ise birçok kanser türünün ortaya çıkmasına neden olur (Aykut 2000). Sigara içen bireylerde içmeyenlere oranla oral squamoz hücreli karsinom görülme riski beş kat fazla bulunmuştur (Erley ve ark 2006).

1.5.2. Sigara ve Periodontal Hastalık

Sigara ile periodontitis arasındaki ilişki yaklaşık yarım yüzyıldır bilinmektedir. Ancak, yakın zamana kadar bu ilişki üzerinde çok durulmamıştır. Günümüzde ise sigaranın; periodontal hastalık gelişmesi ve ilerlemesinde önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (Haffajee ve Socransky 2001). Pek çok ülkede yapılan çalışmalarda, sigara içen kişilerde hiç sigara içmeyenlere göre 5-7 kat daha fazla oranda şiddetli periodontitis gelişme olasılığı belirlenmiştir (Ojima ve ark 2006). Bu araştırmalardan ortaya çıkan sonuçlara göre sigara kullanan kişilerde benzer plak miktarına karşın daha fazla ataşman ve kemik kaybı görülmüş, daha fazla eksik diş bulunmuş, derin cep görülme sıklığı artmış ancak, dişeti enflamasyonunun daha az olduğu ve sondlamada kanama olan bölgeler daha az oranda bulunmuştur (Ojima ve ark 2006). Sigara içenlerin ağız hijyenlerine daha az dikkat ettikleri, plak birikimlerinin daha fazla olduğu ve bu nedenden dolayı periodontal hastalığa yatkın oldukları kanısı yaygındır (Mızrak ve Kaya 2005). Sigara içme alışkanlığı, ağız içinde birçok olumsuz değişikliklere neden olmaktadır. Periodontal dokularda öncelikle vazodilatasyon, daha sonra nikotinin etkisiyle vazokonstrüksiyon gerçekleşir bu da kan akımının azalmasına ve dolayısı ile dişeti enflamasyonu, kızarıklık ve kanamanın azalmasıyla periodontal problemlerin erken belirtilerinin baskılanmasına neden olur (Turnbull 1995). Bir çalışmaya göre, sigara içenlerde eski sigara içenlere göre sondlamada kanama daha az oranda saptanmış, ancak periodontal cep derinliği ve klinik ataşman kaybı daha fazla oranda bulunmuştur. Bu sonuç, sigara içmenin sondlamada kanama üzerine etkisinin doza bağlı olduğunu göstermektedir (Shimazaki ve ark 2006). Başka bir çalışmaya göre ise günde 10 adet ve daha fazla sigara içenlerde sondlamada kanama daha düşük oranlarda bulunmuştur (Dietrich ve ark 2004). Literatürde, sigara kullanımının, kemik mineral yapısı üzerinde etkileri olduğunu gösteren bulgulara göre, hiç sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında sigara içenlerde azalmış kemik mineral içeriği

kaydedilmiştir (Bergström ve ark 1991). Alveoler kemik yüksekliği ile kök uzunluğu oranının yüzde olarak hesaplandığı başka bir çalışmada, ortalama kemik yüksekliği sigara içenlerde %77-78, içmeyenlerde ise %83 olarak bulunmuştur (Bergström ve Eliasson 1987). Sigara içen ve içmeyen bireyler üzerinde yapılan diğer ise bir çalışmada sigara içenlerde hiç içmeyenlere göre radyografik olarak yaklaşık iki kat daha fazla alveoler kemik kaybı ve daha yüksek oranda furkasyon problemleri saptanmıştır (Kerdvongbundit ve Wiskesjö 2000). Sigara içenlerde daha derin periodontal cepler, daha fazla ataşman ve kemik kaybı gözlenmektedir. Cep derinliği ve ataşman kaybı bakımından sigara içen ve içmeyenler arasındaki en önemli fark maksiller palatinal alan ile mandibuler anterior dişlerde sigaranın lokal etkisi olarak saptanmıştır. Ayrıca, sigara içen bireylerde supragingival diştaşı daha fazla saptanmıştır (Johnson ve Hill 2004).

1.5.3. Sigara İçme Miktarı ve Periodontal Hastalık

Sigara içme miktarı ile periodontal hastalık üzerine yapılan çalışmalar sonucu, içilen miktar ile periodontitisin prevalansı ve şiddeti arasında bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Bu ilişki, orta şiddetli ve şiddetli periodontal hastalığın prevalansı ile günlük içilen sigara sayısı ve sigara içilen yıl arasındadır (Grossi ve ark 1994, Haber ve Kent 1992, Martinez-Canut ve ark 1995). Başka bir çalışmada, bir günde on adetten fazla sigara içen bireylerde sağlıklı alanlarda sondlamada kanama miktarının %50 oranında azaldığını bulmuşlardır (Dietrich ve ark 2004). Shimazaki ve ark (2006)'nın bir çalışmasında ise; hastaların sigara içme miktarlarını bir yılda kaç adet sigara içtiklerine göre hesaplamışlar ve bir yılda 1 ile 599 sigara içen hastaları hafif içici, 600 ve daha fazla sigara içen hastaları ise şiddetli içici grubuna dahil etmişlerdir. Bu araştırmaya göre; şiddetli sigara içen hastalarda cep derinliği 4mm ve daha fazla olma ile klinik ataşman kaybı 5mm ve daha fazla olma oranı daha yüksek iken sondlamada kanama oranı daha az bulunmuştur. Sigara ile periodontal durumu karşılaştıran başka bir araştırmada da; günde 15 adetten fazla sigara içen bireylerde oral lökoplaki prevalansı daha yüksek oranda saptanmıştır (Liede ve ark 1999).

1.5.4. Sigara İçme Yaşı ve Periodontal Hastalık

Sigara içenler ve hiç içmeyenler kıyaslandığında 19-30 yaş arası grupta içenlerde 3.9, 31-40 yaş arası grupta ise 2.8 kat daha fazla periodontitis riski

gözlenmiştir (Haber ve ark 1993). Sigaranın periodontal sağlık üzerine etkilerinin 40-69 yaş arası bireylerde, kullanım süresine bağlı olarak 20-39 yaş arası bireylere göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Bergström ve ark 2000).

Sigara bırakıldıktan sonra periodontal doku sağlığına yönelik önemli kazançlar elde edilir. Sigarayı bırakan kişilerde periodontal doku sağlığı, hiç içmeyenlere göre kötü ve içen kişilere göre daha iyi olarak gözlenmiştir. Özellikle sigaranın bırakıldığı ilk haftalarda, dişeti enflamasyonunun daha da kötüleştiği ve fırçalamada kanamaların arttığı bildirilmiştir. Yaklaşık bir yıl sonra dişeti normal anatomik yapı ve konturuna uygun olarak daha keratinize bir hale dönüşebileceği rapor edilmiştir (Haffajee ve Socransky 2001).

1.5.5. Sigara ve Konak Cevabı

Konak cevabı periodontal hastalığın ilerlemesinde diğer önemli bir faktörü oluşturmaktadır. Sigaranın konak cevabını iki yolla etkilediği düşünülmektedir, bunlardan ilki sağlıklı periodontal dokularda yıkıma neden olarak ve diğeri ise enfeksiyon nötralizasyonunda normal konak cevabını bozarak gerçekleşmektedir. Sigara kullananlarda B hücrelerinin normal fonksiyon görmesinde ve antikor üretiminde etkili olan yardımcı lenfositlerin sayısı azalmaktadır. Buna bağlı olarak immunoglobulin (Ig)A ve IgG özellikle de IgG_2 seviyelerinde azalma olduğu saptanmıştır (Graswinckel ve ark 2004). Sigara kullanımının nötrofillerin kemotaksis ve fagositoz yeteneklerini baskıladığı (Güntsch ve ark 2006), nikotine maruz kalan nötrofillerin ise süperoksit iyonu salgılama yeteneklerinin azaldığı bildirilmiştir (Kanehira ve ark 2006). Sigara ve tütün metabolitleri, PMNL'lerin kemotaktik ve fagositik yeteneğini bozar (Kraal ve ark 1979, Pabst ve ark 1995). Sigara kullanan periodontitisli bireylerden alınan DOS örneklerinde, PMNL'lerde yüksek oranda apoptozis belirlenmiştir ve nikotinin bu apoptozis üzerine etkisi olduğu saptanmıştır (Mariggio ve ark 2001). Bir çalışmada, sigara içen bireylerde içmeyenlere göre *P. intermedia* ve *F. nucleatum*'a karşı serum IgG antikor düzeylerinin ve sekretuvar IgA'nın önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Rivera-Hidalgo 1986). Nikotinin, fibroblastlardan kollajen ve fibronektin üretimini azaltabildiği ve fibroblast kollajenaz aktivitesini arttırabildiği rapor edilmiştir (Tipton ve Dabbous 1995). Tütün içeriğinde bulunan maddelerin, periodontal doku yıkımında önemli görev alan sitokinler ve enflamatuvar medaitörlerin üretimini değiştirebildiği belirlenmiştir (Boström ve ark 1998).

1.5.6. Sigara ve Periodontal Mikrobiyoloji

Periodontal hastalıklı sigara içen ve içmeyen bireylerde aynı subgingival mikroflora gözlenmektedir. Bu nedenle, periodontal sağlık üzerine sigara kullanımının etkisinin subgingival florayla ilişkili olamayacağı düşünülmektedir. Önceki çalışmalarda sigara kullanımının bazı önemli periodontal patojenlerin subgingival kolonizasyonunu etkilemediği gösterilmiştir (Preber ve ark 1992).

Literatürde farklı çalışmalar vardır. Sigara içmeyenlere kıyasla içenlerin daha fazla mikrobiyal dental plağa sahip oldukları veya plak bakterilerinin daha farklı veya virulan olduğu belirtilmiştir (Zambon ve ark 1996). Ancak bazı çalışmalarda ise sigara içenlerde plak birikim seviyesi daha az bulunmuştur (Machuca ve ark 2000).

Subgingival floraya bakıldığında ise, sigara içenler ve içmeyenler arasında derin ceplerden elde edilen periodontal patojenlerin arasında yüzde bakımından fark olmadığı bulunmuştur (Boström ve ark 2001). Başka bir çalışmada ise, cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrasında sigara içen ve içmeyen gruplar arasında periodontal mikroflora eliminasyonunda herhangi bir farklılık bulunamamıştır (Preber ve ark 1995). Bu sonuçların tersine, yapılan başka bir çalışmaya göre sigara içenlerde *A. actinomycetemcommitans, P. gingivalis ve T. forshythia* oranını içmeyenlere göre daha yüksek bulunmuştur (Zambon ve ark 1996). Sigara içenlerde DOS ve periferal kan mononükleer hücre seviyelerinde değişim gözlenmiştir. Sigara içen bireylerde DOS nikotin konsantrasyonu, nikotin plazma konsantrasyonundan yaklaşık 300 kat daha fazladır. Nikotinin kök yüzeyine yapışması nedeniyle sigara içen bireylerde diş köklerinde daha az periodontal ligament ataşmanı gözlenmektedir (Johnson ve Hill 2004).

Sigara ve tütün ürünleri, periodontopatojenler ile birlikte subgingival ekolojiyi direkt olarak etkilerler. Bu patojenlerden en sık bulunan beş tanesinden (*P.gingivalis, A. actinomycetemcommitans, P. intermedia, F. nucleatum ve E. corrodens*) herhangi birinin varlığında sigara içimi, periodontitis için güçlü bir risk faktörü olmaktadır (Mızrak ve Kaya 2005). Yine Erie County çalışmasına göre sigara içen bireylerde *P. gingivalis, A. actinomycetemcommitans, T. forsythensis* oranları daha fazla bulunmuştur (Zambon ve ark 1996). Gomes ve ark. (2006) sigara içen bireylerde *P. gingivalis* ve toplam bakteri miktarı açısından fark bulamazken, *Dialister pneumusintes* ve *Micromonas micros* daha fazla oranda tespit edilmiştir. Sigara içen bireylerin subgingival mikrofloralarını inceleyen başka çalışmalarda da,

P. gingivalis, T. forsythia'nın baskın olduğu gösterilmiştir. Bu iki mikroorganizma, sigara içenlerde içmeyenlerden daha fazla miktarda mekanik tedaviyi takiben dirençli kalmaktadır (Mızrak ve Kaya 2005). Başka bir çalışmada da kronik periodontitisli sigara içen ve içmeyen hastaların subgingival plak örneklerinde periodontopatojenlerin görülme sıklığı açısından bir fark bulunamamıştır (Erdemir ve ark 2007). Yine Boström ve ark. (2001), sigara içen ve içmeyen bireyler arasında subgingival mikroflorada ki periodontopatojenlerin yüzdesi açısından fark bulamamıştır.

Çizelge 1.1. Sigaranın olumsuz periodontal etkilerini anlatan mekanizmalar.

Damarsal değişiklikler
Değişmiş nötrofil fonksiyonu
Azalmış IgG yapımı
Azalmış lenfosit proliferasyonu
Artmış periodontopatojen prevelansı
Değişmiş fibroblast ataşman ve fonksiyonu
Mekanik terapi ile patojen eliminasyon zorluğu
Sitokin ve büyüme faktörü yapımına olumsuz lokal etkileri

(Johnson ve Hill 2004).

1.6. Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar hücre dışı matriks proteinlerini ve bazal membranı yıkabilen metale bağımlı endopeptidaz ailesidir. Bu enzimler büyük benzerlikler gösterseler de etkiledikleri substratlarının ve transkripsiyon regülasyonlarının farklı olmasından dolayı birbirlerinden ayrılırlar. Matrix metalloproteinazlar'lar yapısal ve fonksiyonel olarak en az altı gruba ayrılırlar. Bunlar: 1) Kollajenazlar, 2)TipIV kollajenazlar (jelatinazlar), 3) Stromelisinler, 4) Matrilisinler, 5) Membran tip MMP'ler (MT-MMP) 6) Diğer MMP'lardır (D'Alonzo ve ark 2002). Matrix metalloproteinaz'lar nötr pH'da aktiftir, aktivitelerini gösterebilmeleri için "Ca^{++}" gerekir ve aktif bölgelerinde "Zn^{++}" içerirler. Yapısal olarak tüm MMP'lar için prototip kollajenaz veya stromelisindir. Bu prototipe düzenleyici bir parçanın eklenmesi veya kaldırılmasıyla değişik MMP'lar oluşmaktadır. Prototip modelde "Zn^{++}" bağlayıcı sekansı barındıran katalitik aktivite gösteren bir kısım bulunur. Katalitik kısmın önünde bir propeptid bölgesi bulunur. Bu iki yapı enzimin en büyük bölümü olan ve substrat özelliğini

belirlemede rol oynayan peksin benzeri terminal karboksil (COOH) yapıya prolinden zengin bir bağlantı bölgesiyle bağlanır. Ayrıca iki jelatinaz katalitik bölgede jelatin bağlanma bölgesi içermektedir. En küçük MMP olan matrilisin de ise peksin benzeri bölge bulunmamaktadır (Birkedal 1993).

Jelatinazlar tip IV, V, VII ve X kollajen, elastin, fibronektini parçalayabilmektedirler. Jelatinaz A (MMP-2) ve Jelatinaz B (MMP-9) olmak üzere iki tipi vardır. Molekül ağırlığı 72 kDa olan MMP-2, doku baskılayıcı matrix metalloproteinazlar "Tissue Inhibitors of Metalloproteinases" (TIMP)-2 tarafından baskılanır ve fibroblastlar, keratinositler, endotelyal hücreler, makrofajlar, osteoblastlar ve kondrositler tarafından salınır. Jelatinaz A'nın karakteristik özelliği ise PMNL'lerden salınmamasıdır. Molekül ağırlığı 92 kDa olan MMP-9 TIMP-1 tarafından baskılanır ve polimorfonükleer nötrofillerden salınır (Loos ve Tjoa 2005, Keleş ve ark 2006). Stromelisin-1 ve stromelisin-2 proteoglikanların kor proteinleri, tip IV ve tipV kollajen, fibronektin, denatüre tip I kollajen ve laminini içeren bir molekülü parçalayabilmektedirler. Stromelisin-3 enzimi meme kanseri hücrelerinden ve embriyonik fibroblastlar tarafından üretilmektedir ve tam fonksiyonel bir metalloproteinazdır. Matrilisin fibronektin, laminin ve jelatini içeren moleküllerin yıkımına neden olur (Birkedal 1994).

Matriks metalloproteinazların pek çoğu salgılanırken yeni bulunan MT-MMP hücre membranına bağlı olarak bulunmaktadır. Bu proteazlar bir transmembran parça ve bir de hücre dışı katalitik kısımdan oluşmaktadır. Bu MMP'ler hücre içinde furin ve furin benzeri proteazlarla aktive olabilirler. Bu güne kadar altı adet MT-MMP tanımlanmıştır (Anchong ve ark 2003).

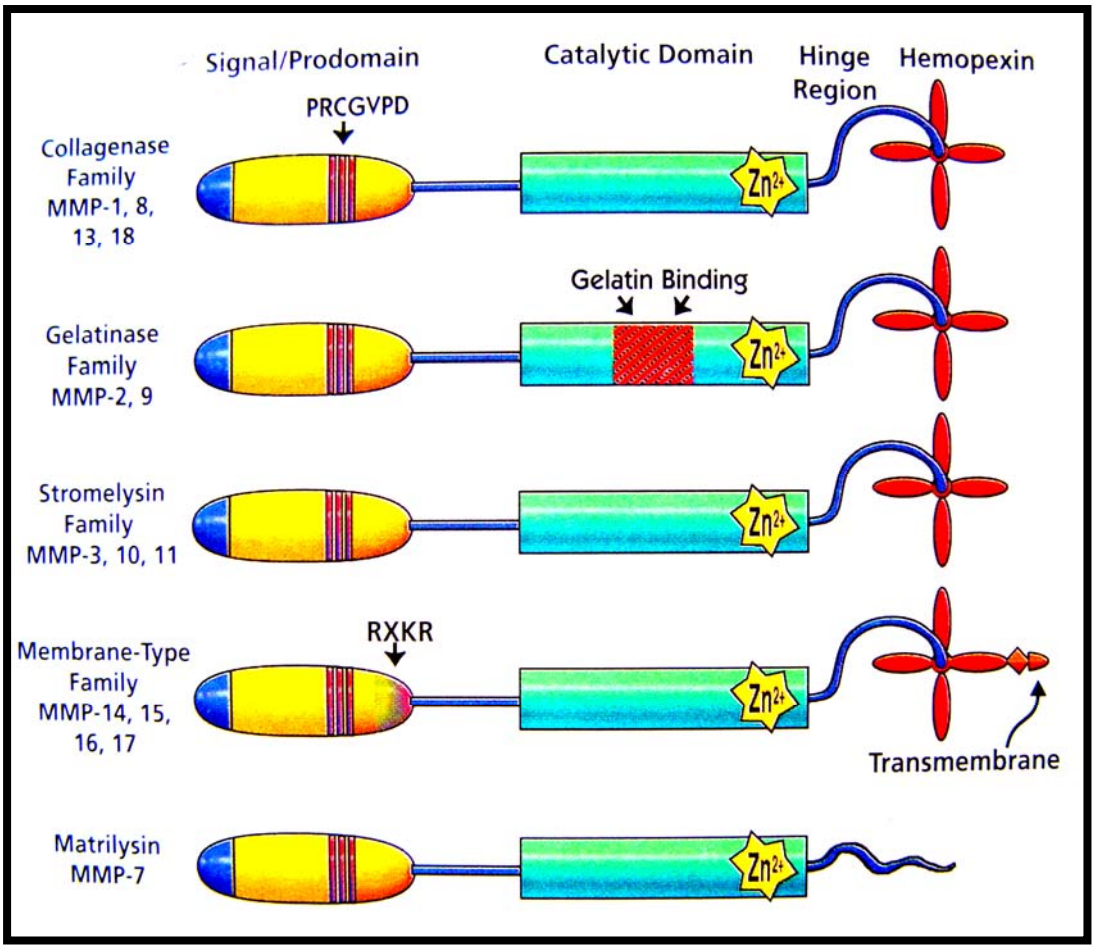
Kollajenazlar kollajen yıkımı yapan metalloproteinaz ailesi üyesidirler. Makrofaj, nötrofil, fibroblast ve keratinositler tarafından salgılanmaktadırlar. Matriks metalloproteinaz ailesinin yirmialtı üyesinden sadece yedi tanesi tip I kollajen fibrillerini yıkabilmektedir. Bunlar; fibroblast tip kollajenaz (FİB-KL veya MMP-1) ve polimorfonükleer lökosit tip kollajenaz (PMNL-KL veya MMP-8), MMP-13, MMP-18, MMP-2, MMP-9 ve MMP-14' dür (Uitto ve ark 2003). MMP-8 salınımı infiltratif nötrofiller tarafından yapılır. Ancak son olarak MMP-8'in sitokinle stimüle edilmiş mezenşimal hücreler tarafından da sentezlendiği bulunmuştur (Romanelli ve ark 1999). MMP-1 ise rezidüel fibroblastlar, osteoblastlar, keratinositler, endotelyal hücreler, kondrositler, epitelyal hücreler ve makrofajlar tarafından salınır(Uitto ve ark 2003).

Çizelge 1.2. Matriks metalloproteinazlar, matriks substratları, biyoaktif substratı ve aktivitesi.

Proteaz	***MMP numarası***	***Martiks substratı***
Kollajenaz-1	MMP-1	Kollajen tipleriIII>I>II,VII,X Jelatin Entaktin Agrekan Tenaskin Bağlantı proteinleri
Kollajenaz-2	MMP-8	Kollajen tipleriI>II>III>VII,X Jelatin Entaktin Tenaskin Agrekan
Kollajenaz-3	MMP-13	Kollajen tipleriII>III>I>VII,X Jelatin Entaktin Tenaskin Agrekan
Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen tipleriI,II,III Jelatin
Jelatinaz-A	MMP-2	Denatüre kollajenler (jelatin) Elastin Fibronektin Kollajen tipleriI,IV,V,VII,X,XI Laminin-5 Agrekan Brevikan Nörokan BM-40 Vitronektin α2-makroglobulin
Jelatinaz-B	MMP-9	Denatüre kollajenler (jelatin) Elastin Fibronektin Kollajen tipleriI,IV,V,VII,X,XI Laminin Agrekan Vitronektin Link protein
MT1-MMP	MMP-14	Kollajen tipleriI,II,III Jelatin Fibronektin Vitronektin
MT2-MMP	MMP-15	Proteoglikan
MT3-MMP	MMP-16	Kollajen tip III Fibronektin
MT4-MMP	MMP-17	Jelatin Fibrin Fibrinojen
MT5-MMP	MMP-24	Fibronektin Proteoglikanlar Jelatin
MT6-MMP	MMP-25	Jelatin Kollajen tip IV Fibrin Fibronektin Laminin-1 Proteoglikanlar

Stromelisin-1	MMP-3	Agrekan Laminin Fibronektin Kollajenin Üçlü heliks yapısı Göstermeyen kısımları Tip II,III,IV,V,IX,X,XI Jelatin Entaktin Tenaskin Vitronektin Fibrin/fibrinojen Link protein Elastin
Stromelisin-2	MMP-10	
Stromelisin-3	MMP-11	Agrekan Laminin Fibronektin
Matrilisin	MMP-7	Agrekan Laminin Fibronektin Kollajenin Üçlü heliks yapısı Göstermeyen kısımları Tip II,III,IV,V,IX,X,XI Jelatin Entaktin Tenaskin Vitronektin Fibrin/fibrinojen
Matrilisin-2	MMP-26	Kollajen tip IV Jelatin Fibronektin Fibrinojen
Metalloelastaz	MMP-12	Elastin Fibronektin Fibrin/fibrinojen Laminin Proteoglikan Jelatin Vitronektin Myelin basik protein
RASI Stromelisin-4	MMP-19	Jelatin Fibronektin Tenaskin Kollajen tip IV Laminin Entaktin Fibrin/fibrinojen Agrekan COMP
Enamelisin	MMP-20	
XMMP CA-MMP Epilysin	MMP-21 MMP-22 MMP-27 MMP-23A,B MMP-28	 Jelatin

(Uitto ve ark 2003).



Resim 1.1. MMP'ların yapısal alanları. Hinge region (dayanak alanı) (Preston 2002).

1.6.1. Matriks Metalloproteinaz Aktivitesi

Matriks metalloproteinazların hücreler arası yapının yıkımına karşı görevlerinin düzenlenmesi; 1)MMP genlerinin transkripsiyon aktivitesinin düzenlenmesi, 2)Prekürsör aktivasyonunun düzenlenmesi, 3)Substratlarının farklı olmaları ve 4)Matriks metalloproteinaz inhibitörleri ile gerçekleşir (Birkedal 1993).

Pek çok MMP geninin transkripsiyonu endojen büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından düzenlenmektedir. Uyarılan MMP geninin mRNA ve protein düzeylerinde elli katlık bir değişime neden olduğu belirtilmiştir (Birkedal 1994).

Prostoglandinler, özellikle PGE_2 makrofajlar ve kemik hücrelerinde döngüsel "siklik'' AMP yolu ile katabolik etki göstermektedir. Glukokortikoidler MMP ailesini baskılayarak antienflamatuvar özelliklerini göstermektedirler. Retinoidler ise vücut hücrelerinde MMP aktivitesini baskılarken kemik ve kıkırdak doku yıkımını ve keratinosit aracılı kollajen yıkımını arttırmaktadırlar (Page 1991).

Matriks metalloproteinaz prekürsörleri enzimin aktif kısmı olan "Zn^{++}'' ile sistein arası bir bağ içerir, bu bağın çözünmesi sonucu enzim aktifleşir (Nagase 1997).

Matriks metalloproteinazların dokulardaki aktivitesi TIMP'lar ya da plazma kaynaklı proteinaz inhibitörleri (α-makroglobulinler) ile denetlenir (Starkey ve Barrett 1973). TIMP; keratinositler, endotel hücreleri, fibroblastlar ve makrofajlar gibi pek çok hücre tarafından salınır. Aktif, bazen de pasif halde bulunan MMP molekülleri ile non-kovalent yapılar oluşturarak etki gösterirler (Uitto ve ark 2003).

Matriks metalloproteinazların aktif halde olanları geniş spektrumlu plazma proteinaz inhibitörleri olan α-makroglobulinler tarafından yakalanırlar. α-makroglobulinler damarsal proteinaz inhibitörleri olmalarına karşın enflamatuvar durumlarda damar dışına da çıkarlar ve MMP'lerin aktif kısmındaki bir bağı bozarak enzimi etkisiz hale getirirler (Birkedal 1994).

1.6.2. Matriks Metalloproteinazların Aktivasyonu

Tüm MMP'lar pre-pro enzim olarak sentezlenirler ve pek çoğu hücrelerden proenzim olarak salınırlar. Bu proenzimlerin aktivasyonu ekstrasellüler matriks yıkımındaki en önemli kritik adımlardan biridir. İnaktif MMP'ların aktivasyonunda üç farklı mekanizma vardır. Bu mekanizmalar şunlardır:

1) Adım adım aktivasyon
2) Hücre yüzeyinde aktivasyon
3) Hücre içinde aktivasyon

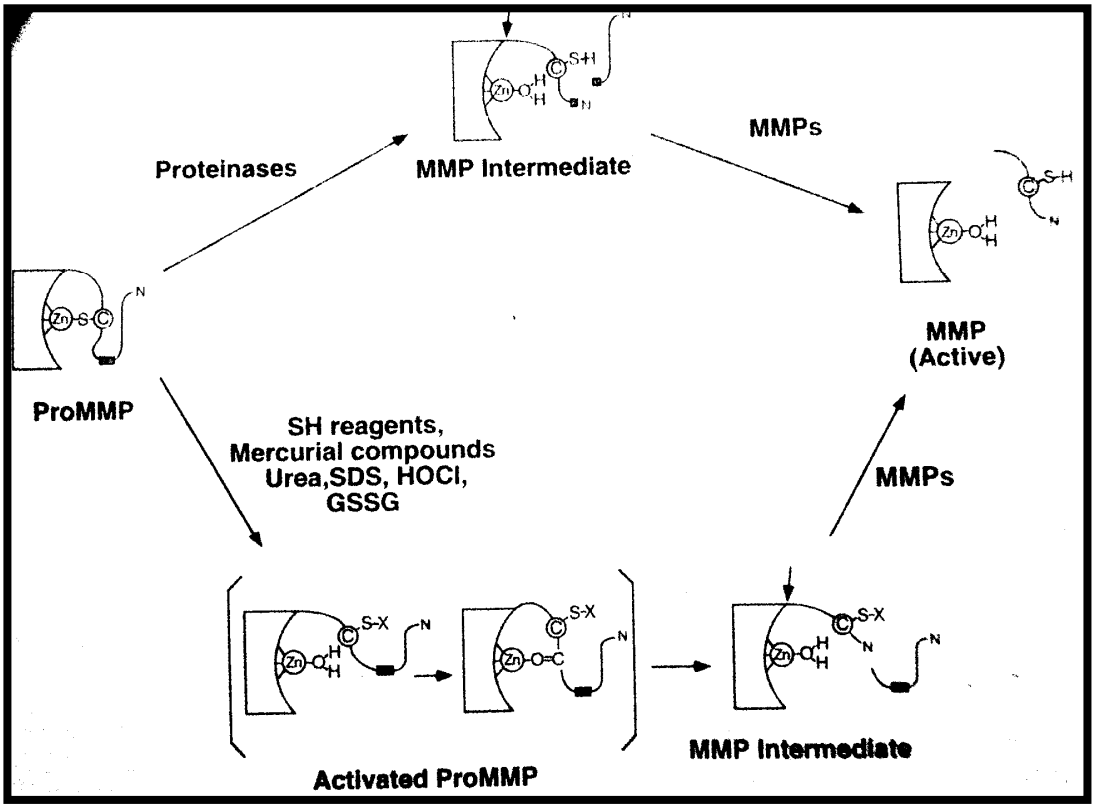
Bunlara ek olarak iki projelatinaz endojen inhibitör olan TIMP'lara bağlanabilirler (Nagase 1997).

Matriks metalloproteinaz-1 ve MMP-7'nin proMMP-2'yi aktive ettiği rapor edilmiştir. Ancak aktivasyon oranı oldukça yavaştır (Sang 1996). Heparin varlığında MMP-1 ile aktivasyonda artış gözlenmektedir (Nagase 1997). ProMMP-2'nin bir diğer endojen aktivatörü, Concanavalin A ile tedavi edilmiş normal ve neoplastik hücrelerin yüzeyinde bulunur. MT1-MMP ve TIMP-2 kompleksi de proMMP-2'yi aktive etmektedir. Matriks metalloproteinaz-3'ün katalitik miktarı TIMP-1'den bağımsız olarak proMMP-9'u aktive edebilmektedir (Nagase 1997).

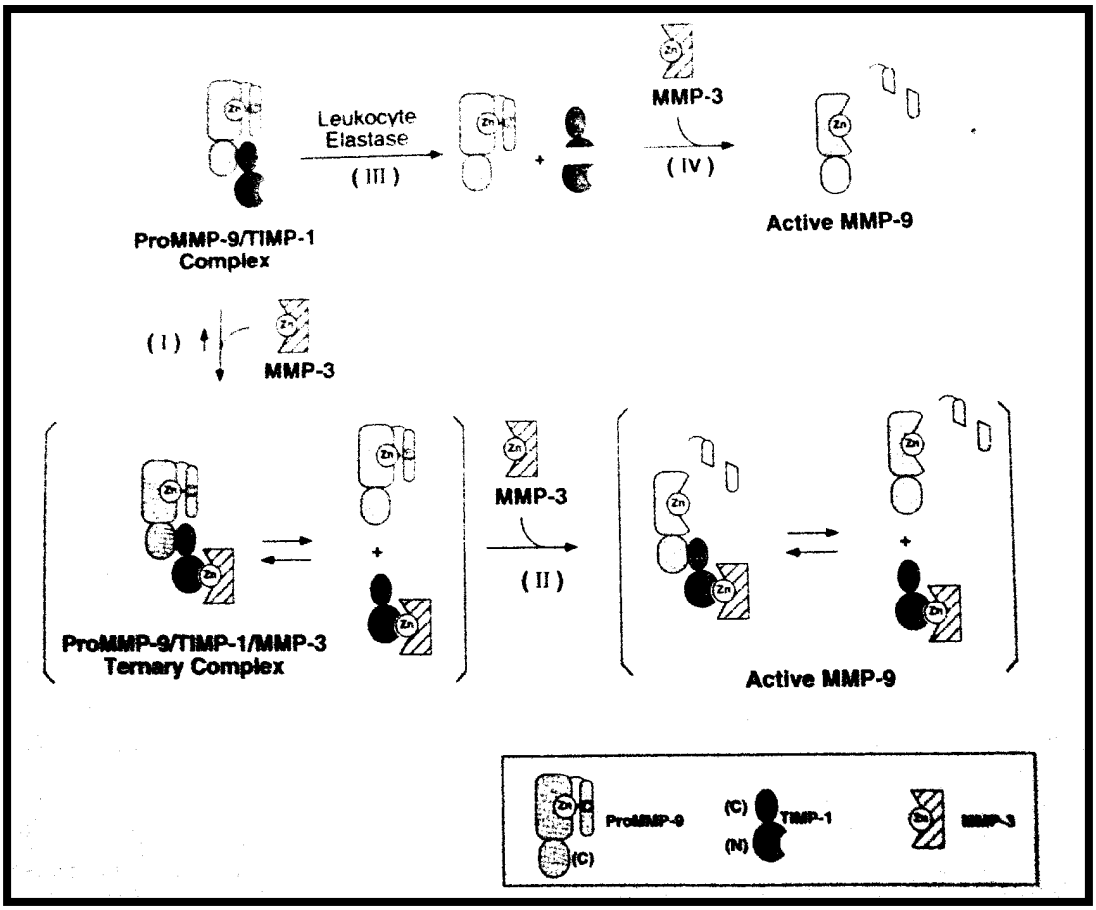
Çizelge 1.3. ProMMP'ların aktivasyonu

Zymogen	Aktivatör	
	Başlangış adımı	Bitiş adımı
ProMMP-1	Trypsin, plasmin, plasma kallikrein	MMP-3,MMP-2,MMP-7,MMP-10,Chymase[a]
ProMMP-2	MT1-MMP,MT3-MMP, MMP-1	MMP-2,MMP-7
ProMMP-3	Trypsin, plasmin gibi MMP olmayan pek çok protein	MMP-3
ProMMP-7	Trypsin, plasmin,lökosit elastaz	MMP-3[b],MMP-7
ProMMP-8	Tissuekallikrein,lökosit elastaz,katepsin G,trypsin	MMP-3[b],MMP-10[b]
ProMMP-9	MMP-1,MMP-2,MMP-3,MMP-7	MMP-1,MMP-2,MMP-3,MMP-7
ProMMP-10	Trypsin, plasmin, chymotrypsin	MMP-10
ProMMP-11		Furin[b]
ProMMP-13	MMP-3,MT1-MMP	MMP-3,MMP-13,MMP-2
ProMT1-MMP		Furin[b]

[a]Sadece parsiyel aktivite tespit edilmiş
[b]Direk aktivasyon
(Nagase 1997).



Resim 1.2. ProMMP Aktivasyonu. İnaktif proMMP, sıralı sistein makasında ve katalitik çinko atomunda Cys'nin birbirini etkilemesiyle tutulur. Aktivasyon yolunda, proteinaz ilk olarak propeptidin ortasında bulunan (■) yem alanına saldırır. ProMMP'lar, ayrıca 4-aminophenyl mercuric acetate (APMA), oxidized glutathione (GSSG), HOCl ve denaturantlar gibi belirteçler tarafından aktive edilir. APMA varlığında, N-terminal propeptidin başlangıç ayrılması intramoleküler reaksiyon yüzünden olur. Final basamak, bir MMP ya da onun intermediatının hareketini içerir (Nagase 1997).

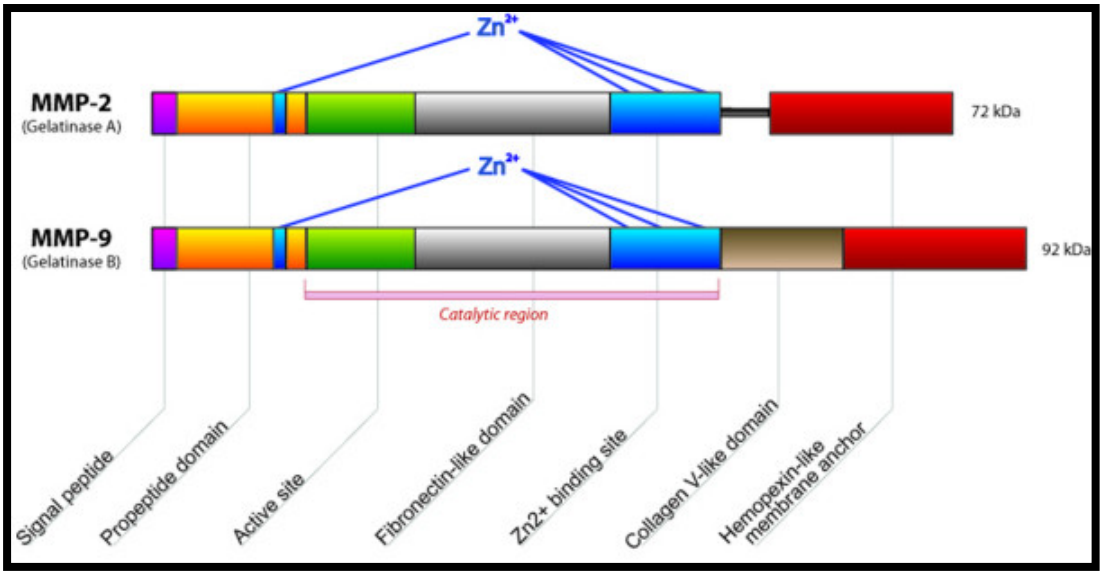


Resim 1.3. ProMMP-9 TIMP-1 Kompleksinin Aktivasyonu. (N), N-terminal alan; (C), C-terminal alan (Nagase 1997).

1.6.3. Jelatinaz A, B (MMP-2, MMP-9)

Jelatinazlar; tip IV, V, VII ve X kollajen, elastin ve fibronektini parçalayabilmektedirler. Jelatinaz A (MMP-2) ve Jelatinaz B (MMP-9) olmak üzere iki tipi vardır. Molekül ağırlığı 72-kDa olan MMP-2; TIMP-2 tarafından baskılanır, fibroblastlar, keratinositler, endotelyal hücreler, makrofajlar, osteoblastlar ve kondrositler tarafından salınır. Jelatinaz A'nın karakteristik özelliği ise polimorfonükleer nötrofillerden salınmamasıdır. Molekül ağırlığı 92 kDa olan MMP-9; polimorfonükleer nötrofillerden salınır ve TIMP-1 tarafından baskılanır (D'Alonzo, 2002). Jelatinazlar proenzim olarak salgılanırlar, katalitik aktivite için aktive edilmeleri gerekmektedir. MMP-2 hücre düzeyinde aktive edilir, aktivasyon membran tip metalloproteinaz-1 (MT1-MMP) yardımı ile olur. Matrix metalloproteinaz-2 ilk kez yüksek düzeyde metastatik murin tümörlerde ve insan melanom hücrelerinde saptanmıştır (Vasala ve ark 2008). Jelatinaz A ve B birincil yapıları ve substrat özgüllükleri açısından birbirine benzemektedirler, fakat farklı genler tarafından kodlanır ve düzenlemeleri "regülasyonları" farklılık gösterir.

Bunlar katalitik bölge, hemopeksin benzeri bölge ve diğer MMP-2'lerden farklı olarak katalitik bölge içinde üç kez tekrar eden fibronektin benzeri bölge içerirler. Hemopeksin benzeri bölge, TIMP'lar ile aktivitenin düzenlenmesinde ve projelatinaz A'nın membranla ilişkili olarak aktivasyonunda yer alır. Fibronektin benzeri bölge ise özellikle tip I jelatin, tip IV kollajen ve elastin yıkımında rol alır (Visse ve Nagase 2003). Matrix metalloproteinaz-2 bazal membranın en önemli proteini olan tip IV kollajeni yıkar ve periodontal dokunun major proteini tip I kollajenin yıkımına neden olur. Bu nedenle kronik periodontitiste, MMP-2'nin artmış seviyeleri kollajen kaybıyla sonuçlanır (Neto ve ark 2004). Matrix metalloproteinaz-9; bağ doku proteinleri olan tip IV, V, XI kollajen, proteoglikan ve elastini yıkar. Matrix metalloproteinaz-9; hücrelerden zymogen olarak salgılanır ve serin proteinazlar ya da diğer MMP'ler tarafından aktive edilir (de Souza ve ark 2005). Diğer bir aktivasyon yöntemi ise plazminojen/MMP-3 ile olmaktadır. Plazmin de direk olarak MMP-9'u aktive edebilir (Vasala ve ark 2008). Matrix metalloproteinaz-2 ve MMP-9 periodontitis hastalarının enflamatuar alanlarında doku ve DOS'ta artmış seviyelerde bulunmaktadır (Chen ve ark 2007). Jelatinaz A ve Jelatinaz B'nin analizleri genelde jelatin zymografi ve Western blotting ile yapılmaktadır. Jelatinaz aktivite deneyleri genellikle jelatin aktivitesini değerlendirir, spesifitesi düşüktür, jelatinaz A ve B'yi birbirinden ayırt edemez. Monoklonal antikorların kullanımı spesifiteyi artırır; ancak bu yöntemle de sadece aktif enzimler belirlenebilir. Enzime bağlı immunoassay "Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay" (ELISA) yöntemi ise MMP-2 ve MMP-9'un spesifik formlarını tespit ederken, en önemli limitasyonu ise pro-enzim ile aktive edilmiş enzimi ayırt edememesidir (Descamps ve ark 2002).



Resim 1.4. MMP-2 ve MMP-9'un Şematik Yapısı. MMP'lar sinyal peptid, propeptid alanı, aktif site, fibronektin benzeri alan, Zn^{++} bağlayıcı alan, kollajen V benzeri alan ve hemopeksin benzeri membran ankordan oluşmaktadır (Preston 2002).

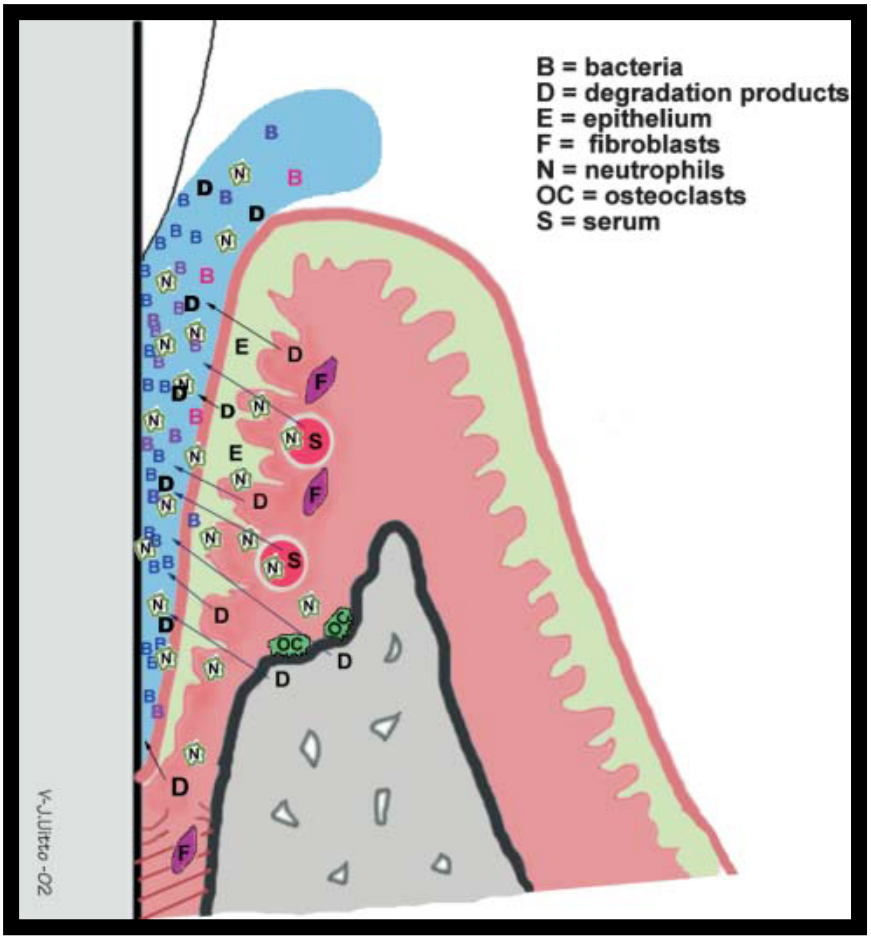
Matriks metalloproteinazların periodontal dokularda ve DOS'daki varlığı birçok araştırmacı tarafından değişik yöntemlerle incelenmiştir. Dişeti oluğu sıvısı, dişeti sulkusundan veya periodontal cepten filtre kağıtları veya kapiller tüpler yardımı ile toplanabilen bir eksudadır. Kapiller damarlardaki sıvının iltihaplı periodontal dokulara oradan da dişeti sulkusu veya periodontal cebe sızması sonucu DOS oluşur. Akut iltihabi sıvının iltihaplı dokulardan geçerken enzimleri, doku yıkımında görevli molekülleri, hücreleri ve doku yıkım ürünlerini yapısına eklediği düşünülmektedir. Bu nedenle DOS'nın aktif doku yıkımının tespitinde önemli görev oynadığı düşünülmektedir (Page 1992).

1.7. Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS)

Dişeti oluğu sıvısı, dişeti cebinin enflamatuvar yumuşak doku duvarından kaynaklanan, başlıca enflamatuvar hücreler (çoğunlukla nötrofiller) ve serum proteinlerinden oluşan, seröz veya visköz enflamatuvar eksudadır. Miktarı enflamasyon varlığında daha fazladır ve bazen enflamasyon şiddetiyle orantılıdır. Sert gıdaların çiğnenmesi, diş fırçalama, gingival masaj, ovulasyon, oral kontraseptifler, sigara içme ve periodontal tedavi ile akış miktarı artar. DOS, ayrıca bakterileri, doku yıkım ürünlerini, enzimleri, antikorları, kompleman ve enflamatuvar mediatörleri de içerir (Bulkacz ve Carranza 2002).

Periodontitis hastalarında cep içinde DOS akış oranının, sağlıklı hastalarınkinden 30 kat fazla olabileceği belirtilmiştir (Uitto 2003). Periodontal

hastalık aktivitesi; mikrobiyal dental plak, kan, salya, DOS örnekleri incelenerek değerlendirilmektedir. Ancak araştırmalar DOS'un moleküler yapısının ve miktarının lokal doku yıkımını daha iyi yansıttığını saptamışlardır. Enflamasyon, vasküler eksudayla ilişkilidir, bu serum içeriği DOS'dan toplanabilir ve enflamatuvar olayı değerlendirmek için analiz edilebilir. Ayrıca, DOS birleşim epitelinin yapısının korunmasında ve periodonsiyumun antimikrobiyal savunmasında önemli rol oynamaktadır (Uitto 2003).



Resim 1.5. DOS Yapısı. Dişeti oluğu sıvısı periodontal hastalıklara bakış için bir penceredir. DOS serumdan, lökositlerden, aktive edilmiş epitelyum hücrelerinden, bağ dokusu hücrelerinden ve kemik hücrelerinden köken alan maddelerden oluşmuştur. Tüm bu maddeler periodontal doku yıkımını yansıtır ve periodontal durm belirteçleri olarak kullanılırlar (Uitto 2003).

Periodontal hastalığın belirlenmesinde önemli rol oynayan konak enflamatuvar ürün ve mediatörleri; PGE_2, sitokinler, antibakteriyel antikorlar, total protein ve akut faz proteinleri gibi pek çok belirteci içerir (Armitage 1996). Bunların içinden enzimler özellikle proteinazlar, sağlıklı periodonsiyumda periodontal doku turn-overını kontrol ederler, hastalıklı periodonsiyumda ise doku yıkımında rol oynarlar. Dişeti oluğu sıvısının toplanması ve analizi alan-spesifik olarak periodonsiyumun patofizyolojik durumunu değerlendirmede non-invaziv bir

metoddur. İnsan periodontal dokularından toplanan DOS'un küçük hacimleri sadece mikrolitre miktarlarındaki moleküllerin spesifik ve sensitif deneylerinde kullanılabilir. Dişeti oluğu sıvısındaki proteinazlar sadece periodontal lezyondaki yıkımın patobiyolojisini anlamak için değil aynı zamanda geleneksel klinik çalışmalarda diagnostik bilgi için de kullanışlıdır (Uitto 2003).

Dişeti oluğu sıvısını örneklemek için metilsellülöz filtre kağıdı, üçgen şekilli nitrosellülöz, kapiller tüp, kağıt koni, sulkus içi yıkama gibi yöntemler uygulanmaktadır. En çok tercih edilen yöntem filtre kağıdı kullanımıdır. Bunlar sulkus içinde bir direnç hissedilinceye kadar (sulkus içi yöntem) veya sulkus girişinde (sulkus dışı yöntem) yerleştirilerek kullanılmaktadır (Bulkacz ve Carranza 2002). Jelatinaz A ve B, DOS'da ençok bulunan MMP'lardandır. Periodontitis hastalarında MMP-2 ve 9 seviyeleri artar. MMP-9 (92kDa) DOS'daki majör jelatinaz olarak bulunmuştur (Korostoff ve ark 2000).

Sigara içen bireylerde nikotinin vazokonstrüktör etkisinden dolayı DOS akışında azalma gözlenmiştir (Rosa ve ark 2000). Bazı çalışmalarda sigara içenlerde DOS akışında geçici bir artış ve hacminde belirgin bir artış saptanmıştır (McLaughlin ve ark 1993, Işımer ve ark 1997).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, kronik periodontitisli bireylerde sigaranın DOS MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri üzerine etkisini inceleyen bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmayla; sigara içmenin, cerrahisiz periodontal tedavinin ve iyi bir plak kontrolünün kronik periodontitisli bireylerde DOS'da MMP-2 ve MMP-9 salınımını etkileyip etkilemediğini ayrıca, MMP-2, MMP-9'un DOS'taki seviyelerinin değerlendirilmesi ile periodontal hastalıktaki rolü ve sigaranın periodontal hastalıktaki etki mekanizmasının jelatinazlarla ilişkili olup olmadığını belirlemek amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Grubu

Araştırma grubunu, Mayıs 2007 - Aralık 2008 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji kliniğine başvuran, kardiyovasküler rahatsızlığı, kronik böbrek hastalığı, diyabeti, metabolik hastalığı olmayan, ortodontik tedavi görmemiş olan ve insan immun yetmezlik virüsü "Human immunodeficiency virus"(HIV), Hepatit A, B veya C virusleri taşımayan, hamile olmayan, ağzında en az 14 dişi olan, son altı ay içinde antibiyotik, antienflamatuvar, sistemik kortikosteroid ilaç kullanmamış ve 35 yaş üstü toplam 39 kronik periodontitis hastası oluşturdu. Ayrıca sigara içen hastalarda günde enaz 10 adet sigara içme şartı arandı. Çalışmaya dahil edilen hastalara araştırmanın amacı ve içeriği anlatıldı ve gönüllü olarak çalışmaya katıldıklarına dair bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı. Araştırma için Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Etik Kurulu'ndan (2007/3-1) onay alındı. Kronik periodontitis teşhisi için en az dört veya daha fazla dişte ≥5 mm sondlanabilir cep derinliği ve klinik ataşman kaybı olması kriter olarak belirlendi. Klinik ve radyografik olarak kronik periodontitis teşhisi konan ve Pİ, Gİ, periodontal hastalık şiddeti yönünden benzer olan hastalar iki gruba ayrıldılar (Armitage 1999):

1) Sigara içen grup S(+): Günde en az 10 adet sigara içen ve sigara içme süreleri 23.99±6.31 yıl olmak üzere yaşları 35-53 arasında değişen (ortalama 42.25±6.45) toplam 16 hastadan oluştu.

2) Sigara içmeyen grup S(-): Çalışma süresine kadar hiç sigara içmeyen ve yaşları 35-68 arasında değişen (ortalama 47.91±8.53) toplam 23 hastadan oluştu.

Cerrahi olmayan periodontal tedavi öncesi, çalışma başlangıcı olarak kabul edildi. Hasta grubunu oluşturan bireylerde; 5 mm veya daha derin sondlama cep derinliğine sahip, her yarım çenede, dört farklı interproksimal bölge çalışma alanları olarak belirlendi. Seçilen bölgelerden klinik parametreler (plak indeksi, gingival indeks, cep derinliği ve klinik ataşman seviyesi) kaydedildi. Başlangıç ölçümlerinin yapıldığı seanstan sonra çalışmaya dahil edilen hastalardan, DOS örnekleri toplandı ve oral hijyen motivasyonu, diş yüzey temizliği ve kök yüzey düzleştirilmesinden oluşan başlangıç periodontal tedavileri uygulandı. Bütün ölçümler 1. , 3. ve 6. aylarda günün aynı zaman diliminde (sabah 09:00-11:00 saatleri arasında) tekrarlandı.

2.2. Periodontal Değerlendirme

Klinik olarak Modifiye Silness-Löe plak indeksi (Pİ) (Silness ve Löe 1964), gingival indeks (Gİ) (Löe 1967), sondlama cep derinliği (SCD) ve klinik ataşman seviyesi (KAS) ölçümleri yapıldı.

2.2.1.Sondlama cep derinliği: Tüm dişlerde Williams periodontal sond* ile dişeti kenarı ile sondlanabilir cep tabanı arasındaki mesafe milimetrik olarak ölçüldü. Tüm dişlerin meziobukkal, bukkal, distobukkal, distolingual (veya distopalatinal), lingual (veya palatinal), meziolingual (veya meziopalatinal) olmak üzere toplam altı noktasından alınan sondlama değerleri milimetrik olarak kaydedildi.

2.2.2.Klinik ataşman seviyesi: Tüm dişlerin mine-sement sınırı ile sondlanabilir cep tabanı arasındaki mesafe Williams periodontal sond kullanılarak milimetrik olarak ölçüldü. Tüm dişlerin meziobukkal, bukkal, distobukkal, distolingual (veya distopalatinal), lingual (veya palatinal), meziolingual (veya meziopalatinal) olmak üzere toplam altı bölgesinden ölçüm yapıldı.

2.2.3.Modifiye Silness-Löe Plak İndeksi: Diş yüzeyindeki plak miktarını belirlemek üzere kullanılan bu indekse göre tüm dişlerin fasial, lingual, mezial ve distal dört yüzeyinde ölçümler yapıldı. Bu indeksin derecelendirilmesi şöyledir:

0: Diş yüzeyinde dişeti bölgesinde hiç mikrobiyal dental plak yok.

1: Diş yüzeyinde mikrobiyal dental plak gözle görülmemekte, ancak sond ucu dişeti sulkusunda gezdirildiğinde plak izlenmektedir.

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

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

2.2.4.Gingival İndeks (Löe 1967): Bu indeks sondlamadan sonra dişler arasındaki papilin kanamasını ve enflamasyonun şiddetini esas alır. Çalışmamızda, tüm dişlerin fasial, lingual, mezial ve distal dört yüzeyinde ölçümler yapıldı. İndeksin derecelendirilmesi şöyledir:

0: Sondlamada kanama yok, enflamasyon belirtisi yok.

* Hu-Friedy, Chicago, Illionis, USA

1: Sondlamada kanama yok; enflamasyon belirtisi var.

2: Sondlamada kanama var, enflamasyon belirtisi var.

3: Şiddetli enflamasyon ve spontan kanamalar var.

2.3. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneği Alınacak Dişlerin Tespiti

Çalışma grubundaki tüm bireylerden alt ve üst çenelerden ikişer diş olmak üzere, sağ çenede ve sol çenede birer adet cep derinliği en fazla olan toplam dört dişten DOS örnekleri alındı. Ancak, SCD eşit olduğu durumlarda 16, 21, 36, 41 numaralı dişlerden, bunların eksik olduğu durumlarda ise eksik olan dişe yakın dişten DOS örneği alındı. Alınan örnekler analiz yapılıncaya kadar -80^{0}C de saklandı.

2.4. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Değerlendirilmesi

Dişeti oluğu sıvısı örnekleri aşağıdaki protokole göre alındı.

1) Generalize kronik periodontitisli hastalardan muayene seansından sonraki seansta (başlangıç) ve başlangıç periodontal tedavi tamamlandıktan sonra 1, 3. ve 6. aylarda DOS örnekleri toplandı.
2) Hastalarda sondlamada kanamanın olduğu ve cep derinliğinin en fazla olduğu (en az 5mm) dişlerin vestibül yüzünün interproksimal bölgelerinden örnekler toplandı.
3) Supragingival plak dişetine değmeden steril bir küret yardımı ile dişten uzaklaştırıldı.
4) Örnek alınacak bölge pamuk rulo tamponlarla izole edildi ve hava spreyi ile kurutuldu.
5) Kağıt şerit[†] sulkusta hafif direnç hissedilinceye kadar ilerletildi ve 30 saniye bekletildi. Kan ve salya bulaşan kağıt şeritler çalışmaya dahil edilmedi.
6) Kağıt şeritteki DOS miktarı µl cinsinden Periotron[‡] cihazı ile ölçüldü.
7) Bir hastadan alınan toplam dört kağıt şerit 250 µl taşıyıcı solüsyon (%0.05 sığır serum albumini içeren fosfat tamponu, pH 7.4) içeren Eppendorf tüpe koyuldu ve analiz edileceği güne kadar -80^{0}C de saklandı.

[†] Periopaper, Proflow, Inc., Amityviile, NY
[‡] Periotron 8000 Harco Electronics, Winnipeg, Canada

2.5. Cerrahisiz Periodontal Tedavi

Başlangıç seansında hastalardan DOS örneklerinin alınmasından ve klinik parametrelerin belirlenmesinden sonra tüm ağza ultrasonik alet[§] ve el aletleri[**] yardımıyla diş yüzeyi temizliği yapıldı. Seans sonunda, patlar ve polisaj lastikleri ile dişler cilalandı. Aynı seansın sonunda bireylere Modifiye Bass fırçalama tekniği ve ara yüz temizliği anlatıldı.

Bir sonraki seansta (bir hafta sonra) lokal anestezi altında Gracey küretler[††] kullanılarak kök yüzeylerinde dokunmayla hissedilebilen birikinti kalmayana kadar kök yüzey düzleştirilmesi işlemi yapıldı.

Cerrahisiz peridontal tedaviye ek olarak herhangi bir antimikrobiyal ajan, destekleyici ilaç veya tedavi uygulanmadı. Ancak bu tedavi kapsamında oklüzal travma yaratabilecek erken temas noktaları ortadan kaldırıldı ve plak birikimine neden olabilecek hatalı restorasyonların düzeltilmesi sağlandı.

2.6. Dişeti Oluğu Sıvısı MMP-2 ve MMP-9 Düzeylerinin Belirlenmesi

Dişeti oluğu sıvısı örneklerinin MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mehmet Serpek Laboratuvar'ında enzim bağlı immün absorban yöntem (ELISA) ve RayBio®[‡‡] firmasının ELISA kitleri kullanılarak gerçekleştirildi.

2.6.1. Yöntemin Prensibi

ELISA tekniğine göre geliştirilen yöntemde ELISA plaklarının yuvaları MMP-2 ve MMP-9'a özgü monoklonal antikorlarla kaplanmıştır. Yuvalarda bulunan bu antikor standart ve örneklerle verilen MMP-2 ve MMP-9 moleküllerini bağlarlar. Daha sonra "horseraddish peroxidase (HRP) conjugate" bağlı anti-MMP-2 ve MMP-9 yuvaya ilave edilir. İnkubasyon işleminden sonra kromojenik tetra-methybenzidine (TMB) ilavesi ile renk saydam renkten maviye döner. Sülfürik asit rengi sarıya çevirir ve kolorimetrik değerlendirmeye geçilir.

[§] Satelec®, Suprasson P5 booster, France
[**] U15-30, H6-7, Hu-Friedy®, USA
[††] Gracey, SG 3/4, 5/6, 7/8, 11/12, 13/14 Hu-Friedy®, USA
[‡‡] Human MMP-2, MMP-9 Immunoassay kit: RayBio®, Norcross, GA

2.6.2. Biyokimyasal Değerlendirme

Deneye başlamadan önce tüm reaktifler ve örnekler oda ısısına getirildi (18-25ºC). Tüm standart ve örneklerde çift örnek kullanıldı. Daha sonra standart ve örneklerden plate'in uygun yuvalarına 100'er µl eklenerek oda ısısında 2,5 saat inkübasyona bırakıldılar. İnkübasyon sonunda plate 4 kez yıkama solüsyonu ile (300µl,25 ml 20× konsantre solüsyon) çok kanallı pipet kullanılarak yıkandı. Yıkama işlemi sonrasında her yuvaya 100µl biotin bağlı antikor eklenerek plak oda ısısında 1 saat inkübasyona bırakıldı. Tekrar solüsyon atılıp 3 kez yıkama yapıldı. Her yuvaya 100µl streptavidin peroksidaz solüsyon eklendi ve oda ısısında 45 dakika inkübasyona bırakıldı. Üç kez yıkama yapıldıktan sonra her yuvaya substrat olarak 100µl TBM (12 ml 3,3',5,5'- tetra metil benzidin (TMB)) eklendi, oda ısısında ve karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Substrat inkübasyonunun ardından 50µl stop solüsyon (8 ml 2 M sülfürik asit) eklendi ve hemen ELISA optik okuyucusunda[§§] 450 nm'de okumalar yapılarak MMP-2 ve MMP-9 enzimlerinin düzeyleri belirlendi. Okunan DOS MMP-2 ve MMP-9 değerleri (ng/ml) sulandırma miktarı (0.25 ml) ile çarpıldı ve dörde bölünerek 30 saniyede toplanan MMP-2 ve MMP-9 ^{dos} total miktarı (ng/30s) belirlendi. Birim hacimdeki MMP-2 ve MMP-9 (ng/µl) konsantrasyonları hesaplanırken okunan MMP-2 ve MMP-9 değerleri (ng/ml) 0.25 ml sulandırma miktarı ile çarpıldı ve DOS (µl) hacmine bölündü.

[§§] µQuant ELISA Microplate Reader, BioTek Instruments, Winooski, VT



Resim 2.1 Human MMP-2, MMP-9 Immunoassay kitleri (RayBio®, Norcross, GA).



Resim 2.2 µQuant ELISA Microplate Reader, BioTek Instruments, Winooski, VT.

2.7. Verilerin İstatistiksel Analizi

Veriler, SPSS for Windows 15.0 (Statistical Package for Social Sciences for Windows) paket programı kullanılarak değerlendirildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Simirnov testi ile belirlendi. Eğer veriler normal dağılım gösteriyorsa iki bağımsız grubun ortalamalarının karşılaştırılması t-testi ile yapıldı. Ancak veriler normal dağılım göstermemişse iki grubun konumlarının testi için non-parametrik Mann-Whitney U testi kullanıldı. Grup içi istatistiksel değerlendirmelerde ise iki bağımsız grubun karşılaştırılmasında Wilcoxon testi, ikiden fazla bağımlı grubun karşılaştırılmasında ise Friedman testi kullanıldı. Test sonuçlarının değerlendirilmesi 0.05 anlamlılık düzeyine göre yapıldı. Ayrıca p-değerleri de verilmiştir.

3. BULGULAR

3.1 Klinik Bulgular

Bu araştırma kronik periodontitisli ve sistemik olarak sağlıklı 39 birey (4 bayan, 35 erkek) üzerinde tamamlanmıştır. Araştırmaya katılan hastaların 16'sı sigara içen erkek hastalardan oluşmaktadır. Sigara içmeyen 23 hastanın 4'ü bayan 19'u erkek hastalardır. Sigara içen ve içmeyen hastalara ait klinik periodontal parametre ortalamaları, standart sapmaları başlangıç, 1., 3. ve 6. ay ortalamaları Çizelge 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışma gruplarında tüm ağız SCD ortalamaları ve standart sapmaları.

	n	**Başlangıç**	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	3.42±0.62	2.85±0.39	2.89±0.43	2.66±0.48
KP S(-)	23	3.39±0.54	2.83±0.3	2.7±0.3	2.69±0.31

Çizelge 3.2 Çalışma gruplarında tüm ağız KAS ortalamaları ve standart sapmaları.

	n	**Başlangıç**	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	4.1±0.92	3.54±0.8	3.53±0.79	3.05±0.91
KP S(-)	23	3.89±0.6	3.28±0.35	3.19±0.37	3.14±0.37

Çizelge 3.3 Çalışma gruplarında tüm ağız Pİ ortalamaları ve standart sapmaları.

	n	**0**	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	2.12±0.27	0.74±0.25	0.68±0.19	0.63±0.21
KP S(-)	23	2.01±0.32	0.73±0.25	0.54±0.21	0.49±0.18

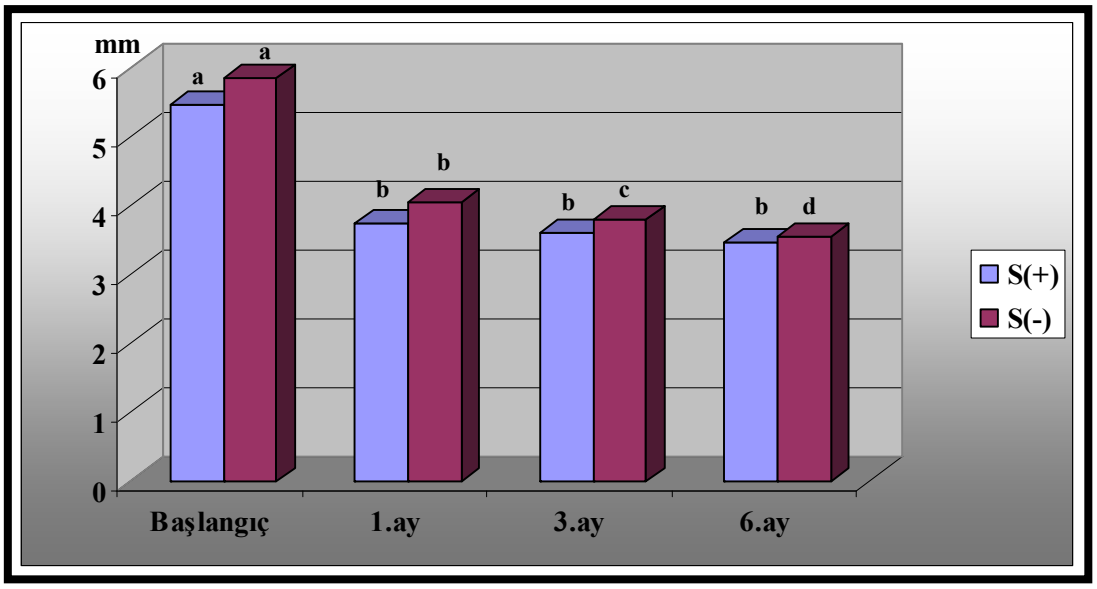
Çizelge 3.4 Çalışma gruplarında tüm ağız Gİ ortalamaları ve standart sapmaları.

	n	**Başlangıç**	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	1.87±0.2	0.86±0.26	0.72±0.29	0.67±0.2
KP S(-)	23	1.84±0.17	0.76±0.28	0.57±0.24	0.54±0.18

3.2. Örnek Alınan Dişle İlgili Klinik Bulgular

3.2.1. Sondlama Cep Derinliği

Her iki grupta çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3. ve 6. aylardaki SCD ortalamaları Çizelge 3.5, 3.6 ve Grafik 3.1'de verilmiştir. Grup içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası her iki grupta başlangıç SCD değerlerinin anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın çalışma süresince devam ettiği ($p<0.05$), ancak sigara içen grupta 3. ay ve 6. aydaki değişim arasında fark olmadığı saptandı (Çizelge 3.5). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında SCD ölçümleri açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$), (Çizelge 3.6).



Grafik 3.1 S(+) ve S(-) gruplarının başlangıç ve tedavi süresince milimetrik olarak SCD.

Çizelge 3.5 SCD'nin tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri (Ki-kare Friedman).

	KP S(+)	**KP S(-)**
Başlangıç	5.46±0.71(a)	5.84±0.76(a)
1.ay	3.73±0.76(b)	4.04±0.83(b)
3.ay	3.59±0.85(b)	3.78±0.67(c)
6.ay	3.46±0.66(b)	3.53±0.56(d)
X^2	31.261	54.382
p-değeri	**<0.001**	**<0.001**

*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

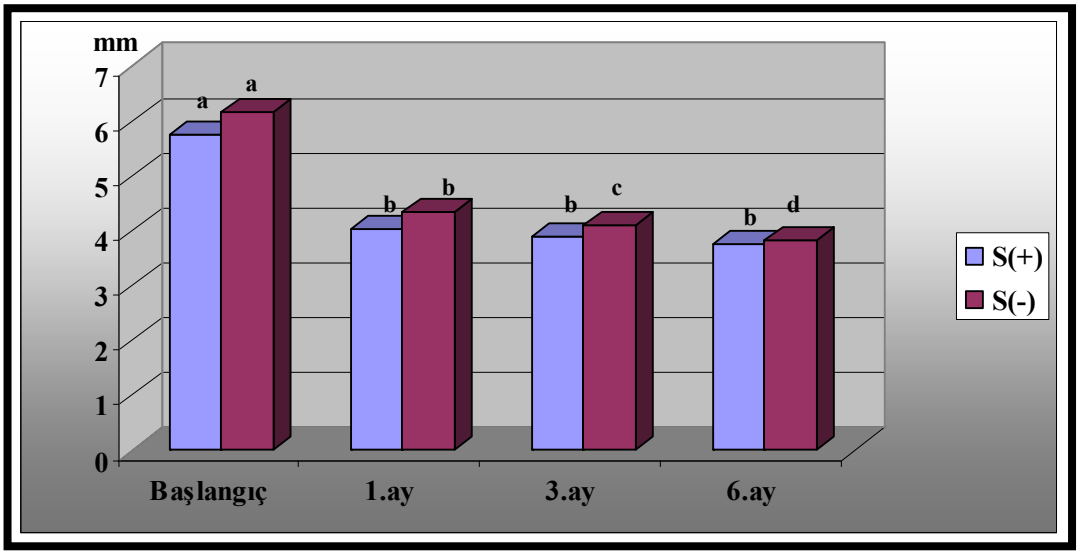
Çizelge 3.6 SCD'nin tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması.

	n	**Başlangıç**	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	5.46±0.71	3.73±0.76	3.59±0.85	3.46±0.66
KP S(-)	23	5.84±0.76	4.04±0.83	3.78±0.67	3.53±0.56
t-değeri		1.561	1.182	0.774	-0.117*
p-değeri		**0.127**	**0.245**	**0.444**	**0.907***

***,*'* değerleri Mann-Whitney U testine aittir.**

3.2.2 Klinik Ataşman Seviyesi

Her iki grupta, çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3. ve 6. aylardaki KAS ortalamaları Çizelge 3.7, 3.8 ve Grafik 3.2'de verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası sigara içmeyen hasta grubunda başlangıç KAS değerlerinin anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın çalışma süresince devam ettiği görüldü ($p<0.05$). Ancak sigara içen grupta başlangıca göre anlamlı bir değişim olmadığı saptandı ($p>0.05$) (Çizelge 3.7). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında KAS ölçümleri açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Çizelge 3.8)



Grafik 3.2 S(+) ve S(-) gruplarının başlangıç ve tedavi süresince milimetrik olarak KAS.

Çizelge 3.7 KAS'nin tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri.

	KP S(+)	**KP S(-)**
n	16	23
Başlangıç	5.76±0.69(a)	6.16±0.78(a)
1.ay	4.03±0.77(b)	4.35±0.82(b)
3.ay	3.89±0.83(b)	4.09±0.65(c)
6.ay	3.76±0.64(b)	3.84±0.57(d)
X^2	31.261	54.382
p-değeri	**<0.001**	**<0.001**

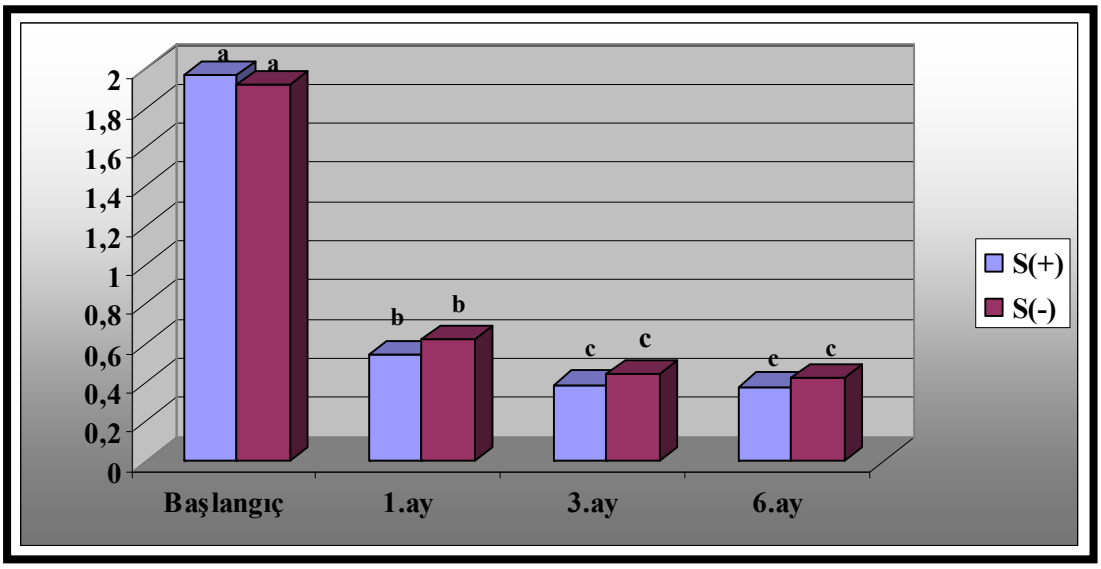
*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.8 KAS'nin tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması.

	n	Başlangıç	1.ay	3.ay	6.ay
KP S(+)	16	5.76±0.69	4.03±0.77	3.89±0.83	3.76±0.64
KP S(-)	23	6.16±0.78	4.35±0.82	4.09±0.65	3.84±0.57
t-değeri		1.601	1.229	0.844	0.392
p-değeri		**0.118**	**0.227**	**0.404**	**0.697**

3.2.3 Plak İndeksi Skorları

Her iki grupta çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3. ve 6. aylardaki Pİ ortalamaları Çizelge 3.9, 3.10 ve Grafik.3.3'de verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası her iki grupta başlangıç Pİ skorlarının anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın çalışma süresince devam ettiği saptandı ($p<0.05$) (Çizelge 3.9). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında Pİ ölçümleri açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Çizelge 3.10).



Grafik3. 3 S(+) ve S(-) gruplarının başlangıç ve tedavi süresince Pİ skorları.

Çizelge 3.9 Pİ skorlarının tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri.

	KP S(+)	**KP S(-)**
n	16	23
Başlangıç	1.97±0.36(a)	1.92±0.37(a)
1.ay	0.54±0.27(b)	0.62±0.25(b)
3.ay	0.39±0.29(c)	0.44±0.16(c)
6.ay	0.38±0.21(c)	0.42±0.19(c)
X^2	33.740	48.507
p-değeri	**<0.001**	**<0.001**

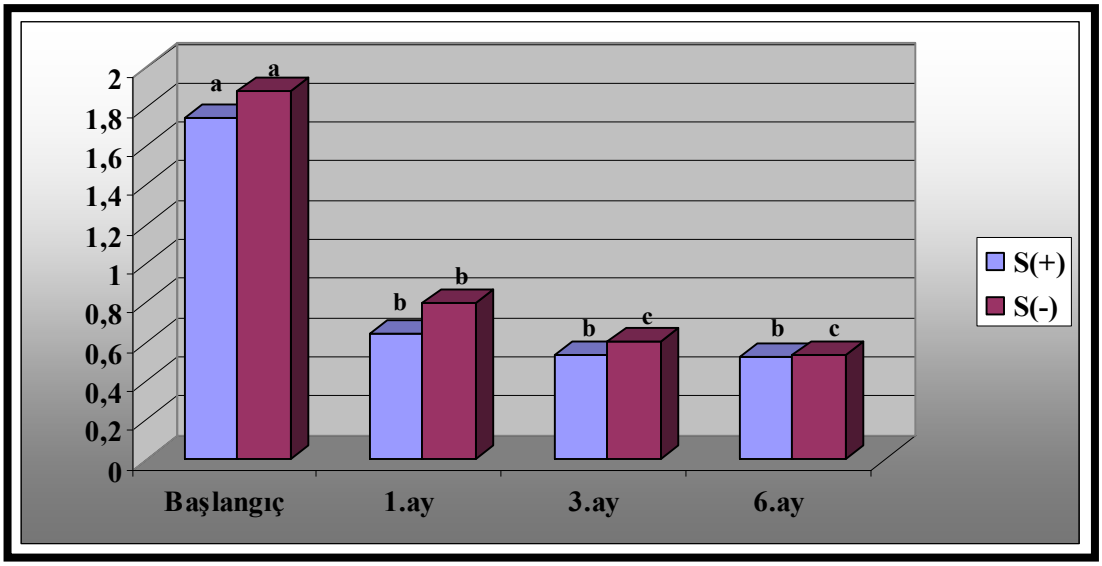
*****Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.10 Pİ skorlarının tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması.

	n	**Başlangıç**	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	1.97±0.36	0.54±0.27	0.39±0.29	0.38±0.21
KP S(-)	23	1.92±0.37	0.62±0.25	0.44±0.16	0.42±0.19
t-değeri		-0.458	0.974	0.627	0.511
p-değeri		**0.649**	**0.336**	**0.537**	**0.612**

3.2.4. Gingival İndeks

Her iki grupta çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3., 6. aylardaki Gİ ortalamaları Çizelge 3.11 ve 3.12'de ve Grafik. 3.4'de verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası her iki grupta başlangıç Gİ skorlarının anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın çalışma süresince devam ettiği ($p<0.05$), ancak 1, 3.ve 6. aylar arasında değişim olmadığı saptandı (Çizelge 3.11). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında Gİ ölçümleri açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Çizelge 3.12).



Grafik 3.4 S(+) ve S(-) gruplarının başlangıç ve tedavi süresince Gİ skorları.

Çizelge 3.11 Gİ skorlarının tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri.

	KP S(+)	**KP S(-)**
n	16	23
Başlangıç	1.74±0.26 (a)	1.88±0.26 (a)
1.ay	0.64±0.38 (b)	0.80±0.31 (b)
3.ay	0.53±0.33 (b)	0.60±0.28 (c)
6.ay	0.52±0.40 (b)	0.53±0.20 (c)
X^2	32.019	51.800
p-değeri	**<0.001**	**<0.001**

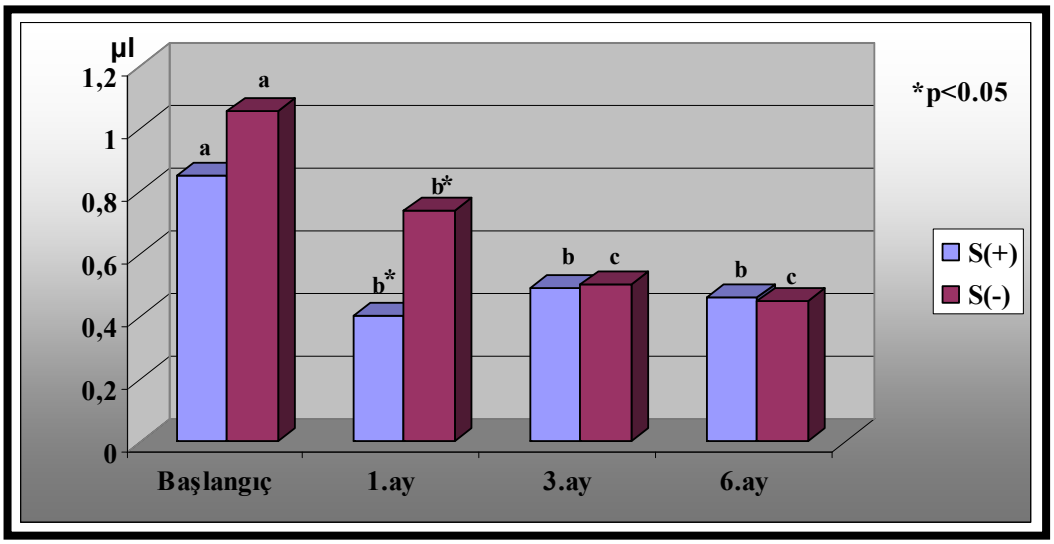
***Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.12 Pİ skorlarının tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması.

	n	Başlangıç	1.ay	3.ay	6.ay
KP S(+)	16	1.74±0.26	0.64±0.38	0.53±0.33	0.52±0.40
KP S(-)	23	1.88±0.26	0.80±0.31	0.60±0.28	0.53±0.20
t-değeri		1.560	1.451	0.725	0.117
p-değeri		**0.127**	**0.155**	**0.473**	**0.908**

3.2.5. DOS Hacmi

Her iki grupta çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1, 3 ve 6. aylardaki DOS hacmi ortalamaları Çizelge 3.13, 3.14 ve Grafik 3.5'te verilmiştir. Grup içi karşılaştırmalarda; her iki grupta DOS hacminin başlangıca göre anlamlı azalma gösterdiği ve 1. ay ile 3. ve 6. aylardaki değişim arasında fark olduğu ancak 3. ve 6. aylardaki değişim arasında fark olmadığı saptandı($p<0.05$) (Çizelge 3.13). Çalışma grupları arasında ise sadece 1. ayda DOS hacmi bakımından anlamlı fark bulundu ($p<0.05$), başlangıç, 3. ve 6. aylarda fark bulunamadı ($p>0.05$) (Çizelge 3.14).



Grafik 3.5 S(+) ve S(-) gruplarının başlangıç ve tedavi süresince DOS hacmi (µl)miktarları.
** t-testi, istatistiksel olarak anlamlı (gruplar arası).*

Çizelge 3.13 DOS hacmi miktarlarının tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri.

	KP S(+)	**KP S(-)**
n	16	23
Başlangıç	0.85±0.38 (a)	1.06±0.35 (a)
1.ay	0.4±0.18 (b)	0.74±0.35 (b)
3.ay	0.49±0.19 (b)	0.5±0.24 (c)
6.ay	0.46±0.18 (b)	0.45±0.2 (c)
X^2	11.408	44.530
p-değeri	**0.010**	**<0.001**

*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.14 DOS hacmi miktarlarını tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması.

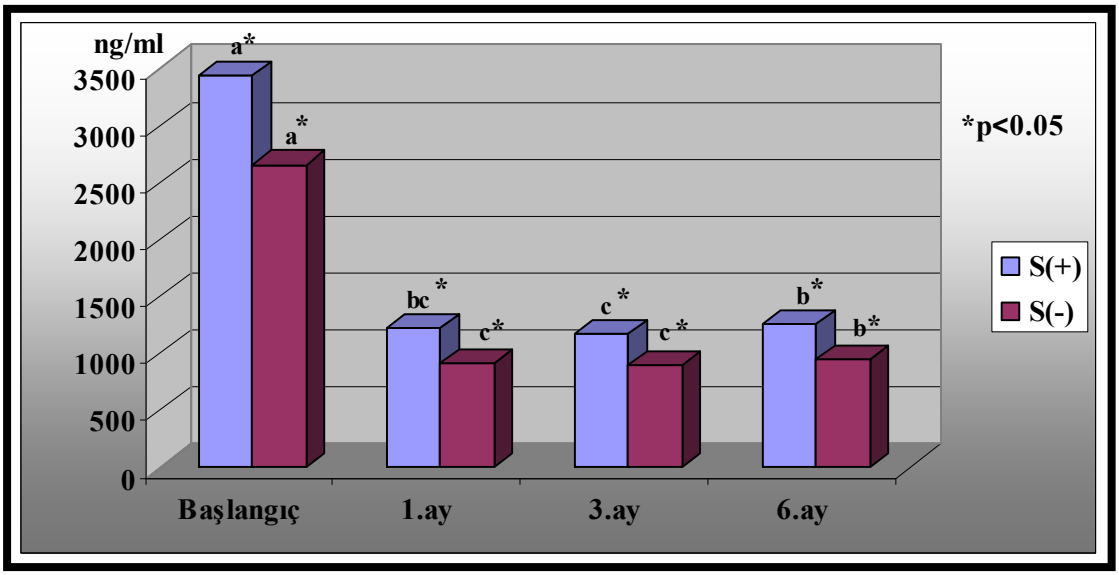
	n	**Başlangıç**	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	0.85±0.38	0.4±0.18	0.49±0.19	0.46±0.18
KP S(-)	23	1.06±0.35	0.74±0.35	0.5±0.24	0.45±0.2
t-değeri		1.738	4.061	0.185	-0.026
p-değeri		**0.091**	**<0.001***	**0.854**	**0.979**

3.3 Biyokimyasal Bulgular

3.3.1 MMP-2 Konsantrasyon Bulguları

Her iki grupta çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3. ve 6. aylardaki MMP-2 konsantrasyon miktarları Çizelge 3.15, Çizelge 3.16 ve Grafik 3.6'te verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda, tedavi sonrası her iki grupta MMP-2 konsantrasyon miktarlarının anlamlı azalma gösterdiği ($p<0.05$), ancak S(-) grupta 1. ve 3. aylardaki değişim arasında fark olmadığı bunun yanı sıra başlangıç ile 1. ay

arasındaki değişim ile başlangıç ve 6. ay, 6. ay ile 1. ve 3. aylar arasındaki değişimde fark olduğu, S(+) grupta ise 1. ile 3. ve 6. aylardaki değişim arasında fark olmadığı ancak, 3. ve 6.aylar arasında ve başlangıca göre tüm aylar arasında fark olduğu saptandı (Çizelge 3.15). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında MMP-2 konsantrasyon miktarları arasında farklılık vardı ($p>0.05$), (Çizelge 3.16).



Grafik 3.6 S(+) ve S(-) gruplarının başlangıç ve tedavi süresince MMP-2 konsantrasyon miktarlarını ng/ml biriminden sayısal değişimi.
** t-testi, istatistiksel olarak anlamlı (gruplar arası).*

Çizelge 3.15 MMP-2 konsantrasyon miktarlarını tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri.

	KP S(+) Med Min-Maks	**KP S(-)** Med Min-Maks
n	16	23
Başlangıç	2588,89(a) 1064.29-4379.04	2588.89(a) 1064.29-4379.04
1.ay	1180.90(bc) 708.34-2044.88	942.03(c) 450.73-1686.33
3.ay	1124.71(c) 602.16-2023.17	916.67(c) 456.80-1717.42
6.ay	1249.63(b) 708.86-2012.00	942.03(b) 467.46-1723.72
X^2(Friedman)	32.475	50.530
p-değeri	**<0.001**	**<0.001**

*****Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

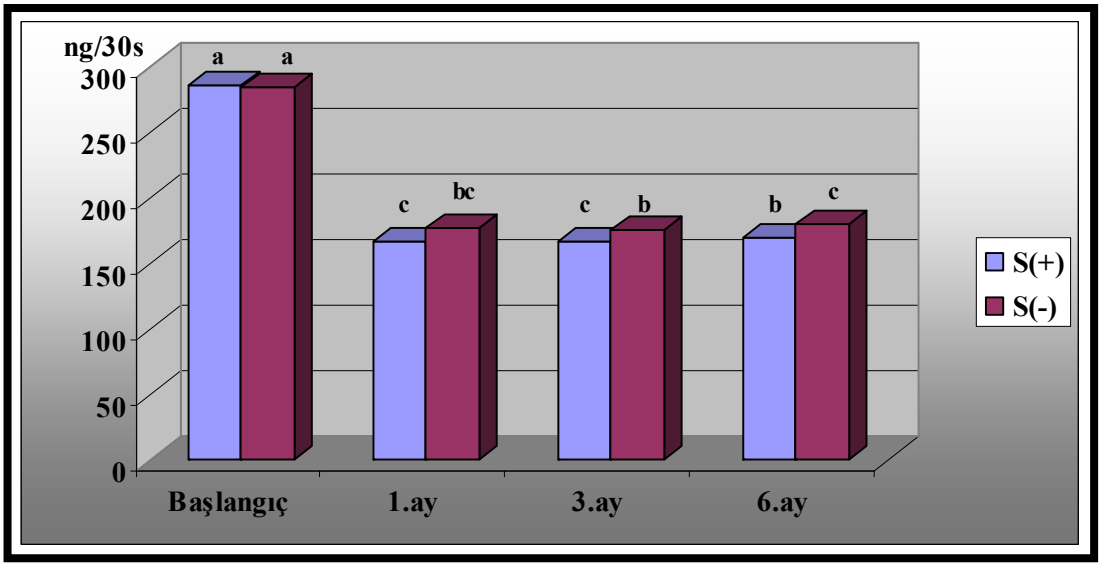
Çizelge 3.16 MMP-2 konsantrasyon miktarlarını tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması.

	n	**Başlangıç** Med Min-Maks	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	3422.72 2220.34-4934.79	1180.90 708.34-2044.88	1124.71 602.16-2023.17	1249.63 708.86-2012.00
KP S(-)	23	2588.89 1064.29-4379.04	942.03 450.73-1686.33	916.67 456.80-1717.42	942.03 467.46-1723.72
t-değeri		-3.158	-3.114	-2.684	-2.953
p-değeri		**0.003**	**0.004**	**0.011**	**0.005**

3.3.2 MMP-2 Total Miktar Bulguları

Her iki grupta çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3. ve 6. aylardaki MMP-2 total miktarları Çizelge 3.17, Çizelge 3.18 ve Grafik 3.7'te verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda, tedavi sonrası her iki grupta MMP-2 total miktarlarının anlamlı azalma gösterdiği ($p<0.05$), ancak S(-) grupta 3. ve 6. aylardaki değişim arasında fark olduğu, 1. aya göre fark olmadığı, S(+) grupta ise 1. ve 3.

aylardaki değişim arasında fark olmadığı, ancak 6. ay ile 1. ve 3. aylardaki değişim arasında fark olduğu saptandı (Çizelge 3.17). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında MMP-2 total miktarları arasında farklılık yoktu ($p>0.05$), (Çizelge 3.18).



Grafik 3.7 S(+) ve S(-) gruplarının başlangıç ve tedavi süresince MMP-2 total miktarlarının ng/30s biriminden sayısal değişimi.

Çizelge 3.17 MMP-2 total miktarlarının tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri.

	KP S(+) Med Min-Maks	**KP S(-)** Med Min-Maks
n	16	23
Başlangıç	285.00(a) 242.50-635.63	286.25(a) 233.7-336.88
1.ay	164.38(c) 145.00-201.25	174.38(bc) 130.63-238.13
3.ay	165.31(c) 150.63-191.88	174.38(b) 133.13-234.38
6.ay	170.94(b) 154.38-199.39	178.13(c) 135.24-243.75
X^2	37.151	48.573
p-değeri	**<0.001**	**<0.001**

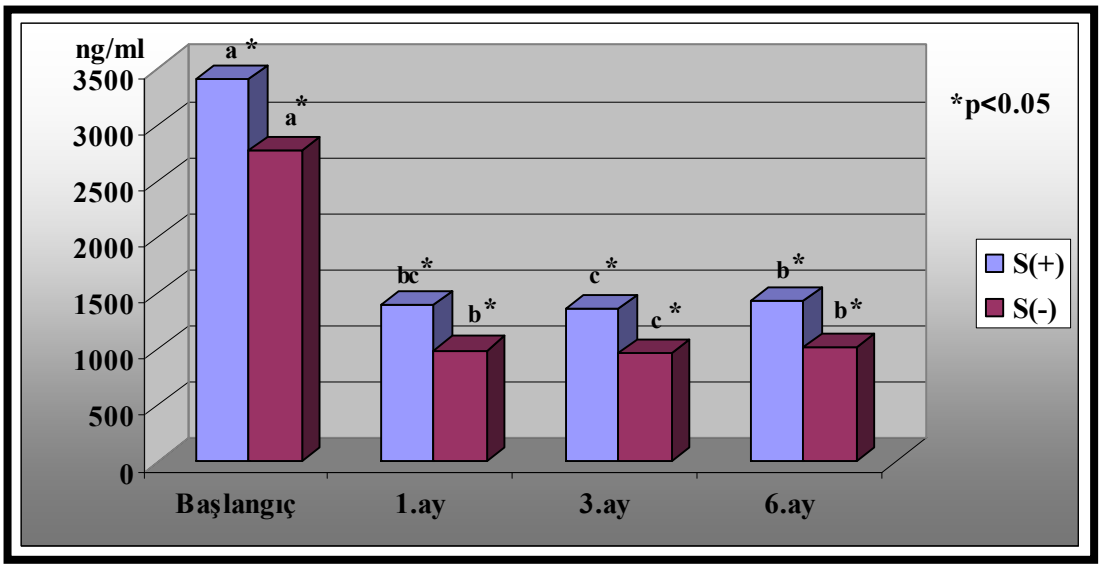
***Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.18 MMP-2 total miktarlarını tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması.

	n	**Başlangıç** Med Min-Maks	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	285.00 242.50-365.63	164.38 145.00-201.25	165.31 150.63-191.88	170.94 154.38-199.39
KP S(-)	23	286.25 233.75-336.88	174.38 130.63-238.13	174.38 133.13-234.38	178.13 135.24-243.75
t-değeri		-0.253	1.641	1.613	1.416
p-değeri		**0.801**	**0.109**	**0.115**	**0.165**

3.3.3 MMP-9 Konsantrasyon Bulguları

Her iki grupta çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3. ve 6. aylardaki MMP-9 konsantrasyon miktarları Çizelge 3.19, Çizelge 3.20 ve Grafik 3.8'te verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda, tedavi sonrası her iki grupta MMP-9 konsantrasyon miktarlarının anlamlı azalma gösterdiği $p<0.05$, ancak S(+) grupta 3. ve 6. aylardaki değişim arasında fark olduğu, 1. ay ile 3. ve 6. aylardaki değişim arasında fark olmadığı, S(-) grupta ise 1. ve 6. aylardaki değişim arasında fark olmadığı, ancak 3. ay ile 1. ve 6. aylardaki değişim arasında fark olduğu saptandı (Çizelge 3.19). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında MMP-9 konsantrasyon miktarları arasında farklılık vardı ($p>0.05$), (Çizelge 3.20).



Grafik3.8 S(+) ve S(-) gruplarının başlangıç ve tedavi süresince MMP-9 konsantrasyon miktarlarının ng/ml biriminden sayısal değişimi.
** t-testi, istatistiksel olarak anlamlı (gruplar arası).*

Çizelge 3.19 MMP-9 konsantrasyon miktarlarını tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri.

	KP S(+) Med Min-Maks	**KP S(-)** Med Min-Maks
n	16	23
Başlangıç	3443.43(a) 2361.71-4739.59	2829.56(a) 1130.00-3719.70
1.ay	1398.90(bc) 833.38-1967.60	946.00(b) 511.12-1475.97
3.ay	1352.52(c) 839.06-1913.80	916.67(c) 536.18-1417.14
6.ay	1332.71(b) 846.12-2166.80	946.41(b) 590.68-1496.98
X^2(Friedman)	32.700	47.646
p-değeri	**<0.001**	**<0.001**

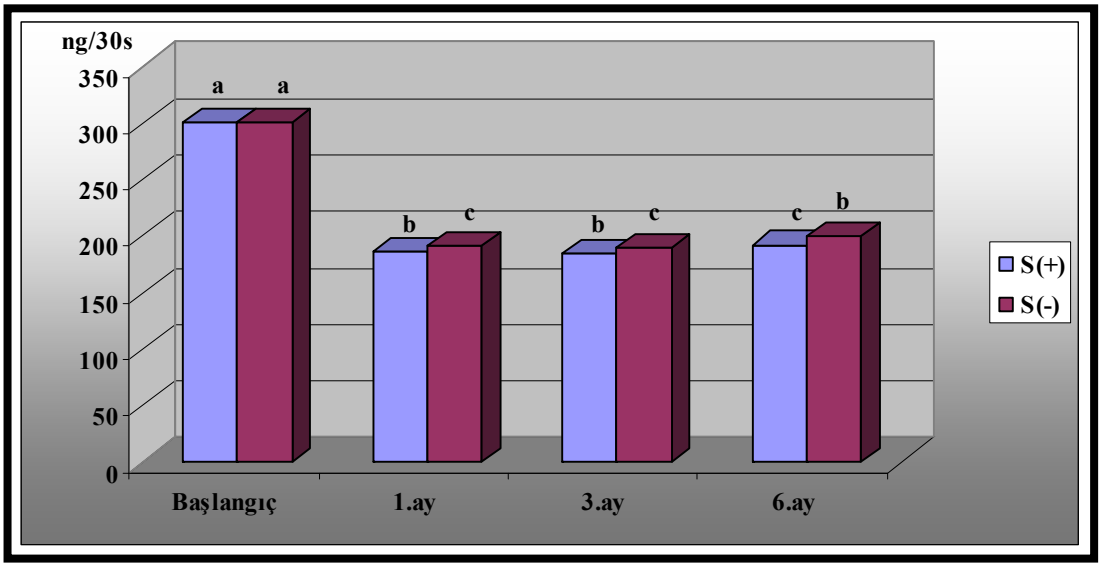
*****Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.20 MMP-9 konsantrasyon miktarlarını tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması.

	n	**Başlangıç** Med Min-Maks	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	3443.43 2361.71-4739.59	1398.90 833.38-1967.60	1352.52 839.06-1913.80	1332.71 846.12-2166.80
KP S(-)	23	2829.56 1130.00-3719.70	946.00 511.12-1475.97	916.67 536.18-1417.14	946.41 590.68-1496.98
t-değeri		-2.961	-3.941	-3.966	-3.812
p-değeri		**0.005**	**<0.001**	**<0.001**	**0.001**

3.3.4 MMP-9 Total Miktar Bulguları

Her iki grupta çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3. ve 6. aylardaki MMP-2 total miktarları Çizelge 3.21, Çizelge 3.22 ve Grafik 3.9'te verilmiştir. Grup- içi karşılaştırmalarda, tedavi sonrası her iki grupta MMP-9 total miktarlarının anlamlı azalma gösterdiği $p<0.05$, ancak S(-) ve S(+) grubunda 1.ve 6. aylardaki değişim arasında fark olmadığı, ancak 6. ay ile 1. ve 3. aylardaki değişim arasında fark olduğu saptandı. (Çizelge 3.21). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında MMP-9 total miktarları arasında farklılık yoktu ($p>0.05$), (Çizelge 3.22).



Grafik 3.9 S(+) ve S(-) gruplarının başlangıç ve tedavi süresince MMP-9 total miktarlarının ng/30s biriminden sayısal değişimi.

Çizelge 3.21 MMP-9 total miktarlarını tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri.

	KP S(+) Med Min-Maks	**KP S(-)** Med Min-Maks
n	16	23
Başlangıç	297.81(a) 277.50-333.13	299.38(a) 270.63-345.00
1.ay	188.44(b) 145.00-215.00	186.88(c) 152.50-231.25
3.ay	190.00(b) 152.50-213.13	190.00(c) 145.00-215.00
6.ay	196.56(c) 162.50-215.00	201.25(b) 156.25-238.75
X^2	38.057	53.961
p-değeri	**<0.001**	**<0.001**

*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.22 MMP-9 total miktarlarını tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması.

	n	**Başlangıç** Med Min-Maks	**1.ay**	**3.ay**	**6.ay**
KP S(+)	16	297.81 277.50-333.13	188.44 145.00-215.00	190.00 152.50-213.13	196.56 162.50-215.00
KP S(-)	23	299.38 270.63-345.00	186.88 152.50-231.25	190.00 145.00-215.00	201.25 156.25-238.75
t-değeri		0.014	0.704	0.695	0.953
p-değeri		**0.989**	**0.486**	**0.491**	**0.347**

4.TARTIŞMA

Bu araştırmada, sigaranın kronik periodontitisli hastalarda DOS MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri üzerine etkisi olup olmadığı araştırılmıştır. Bilgilerimiz dahilinde bu çalışma, sigaranın MMP-2 ve MMP-9 üzerine etkilerini inceleyen ilk klinik çalışmadır.

Periodontitis dişleri çevreleyen destek dokuların mikroorganizmalara karşı oluşturdukları lokalize enflamatuar reaksiyonlarla başlayıp cep oluşumu ve/veya dişeti çekilmesi ve alveoler kemik kaybı gelişen, sonrasında da dişlerin kaybı ile sonuçlanabilen enfeksiyöz bir hastalıktır (Lindhe ve Ericsson 1978, Slots 1979, Loesche ve ark 1985). Periodontitisin gelişmesinde pek çok etken rol alır, primer etiyolojik etken mikrobiyal plak bakterileri ve onların ürünleridir. Ancak hastalığın gelişmesi ve ilerleyebilmesi için konak savunma sistemi de önemli bir etkendir. Konak savunma sistemi hücreleri, mikrobiyal dental plak ve ürünleri ile karşılaştığında doku yıkıcı ve koruyucu mekanizmalar aynı anda harekete geçer (Cosyn ve Sabzevar 2005).

Cerrahisiz periodontal tedavi; periodontitisin primer etiyolojik etkeni olan mikrobiyal dental plağın mekanik olarak uzaklaştırılmasını amaçlar. Kronik periodontitis hastalarında cerrahisiz periodontal tedavi klinik cevapların artışını sağlar. Toplam subgingival mikrobiyal bakteri ve periodontopatojenlerin sayısı azalır (Knöfler ve ark 2007). Bir klinik çalışmada, orta şiddetli periodontitis hastalarında oral hijyen uygulamaları ve cerrahisiz periodontal tedavi sonrasında dişeti durumlarında ileri derecede düzelme olduğu saptanmıştır (Badersten ve ark 1981). Cerrahisiz periodontal tedavi sayesinde diş üzerindeki supra ve subgingival eklentiler uzaklaştırılarak plak tutulumuna neden olan lokal etiyolojik faktörler ortadan kaldırılır ve böylece mikrobiyal yük azaltılır. Bu sayede periodontal flora sağlıklı hale getirilir. Periodontal tedavinin ilk ve en önemli fazını oluşturan cerrahisiz periodontal tedavi ile dişi çevreleyen periodontal dokular için biyolojik olarak kabul edilebilir bir kök yüzeyi oluşturmak amaçlanır (Adriaens ve Adriaens 2004, Drisko 2001).

Cerrahisiz periodontal tedavi periodontal hastalıkların tedavisinde en önemli basamaklardan biridir. Ancak periodontal hastalığı olan bireylere bu başlangıç tedavisinin uygulanım şekli bakımından literatürde farklı yaklaşımlar bulunmaktadır (Apatzidou ve Kinane 2004). Her yarım çeneye ayrı seanslarda tedavi uygulanımının

yanı sıra son dönemde yapılan araştırmalarda kök yüzey düzleştirilmesi işleminin tek seansta bitirilmesi üzerine çalışılmıştır. Ancak literatürde her iki tedavi yönteminin karşılaştırıldığı çalışmalarda her iki tedavi yaklaşımı açısından farklılık olmadığı bulunmuştur. Örneğin; 20 kronik periodontitis hastası ile yapılan 6 aylık bir çalışmada her iki tedavi yaklaşımı uygulanmış ancak klinik parametreler açısından fark bulunamamıştır (Jervøe-Storm ve ark 2006). Başka bir araştırmada ise sekiz ay sonunda klinik parametreler ve periodontopatojenlerin azalması açısından fark ortaya çıkmamıştır (Swierkot ve ark 2009). Uzun dönem takipli bir araştırma sonucunda da 37 kronik periodontitis hastasının klinik ataşman kazancı, SCD ve sondlamada kanama azalması bakımından fark gözlenmemiştir (Knöfler ve ark 2007). Bizim çalışmamızda; bu literatür bilgilerin ışığında, tek seansta tüm dişlere kök yüzey düzleştirilmesi işleminin klinik olarak hekim açısından zorlayıcı olduğu da göz önünde tutularak, diş yüzey temizliğinden bir hafta sonra her yarım çeneye ikişer gün arayla ayrı seanslarda kök yüzey düzleştirilmesi işlemleri uygulandı.

Periodontal hastalıkların tedavisinde, en önemli aşama olan başlangıç periodontal tedaviden 1-2 hafta sonra birleşim epiteli diş kökünün yüzeyine tekrar yapışır. Daha sonraki 4-8 hafta içinde bağ dokusunun yeniden yapılanması tamamlanır. Ancak ağız hijyen seviyesi yeterli olmayan bireylerde hastalığa neden olan periodontopatojenler periodontal tedavi öncesindeki miktarlarına ortalama 9-11 hafta arasında ulaşabilirler. Bu nedenlerden dolayı cerrahisiz periodontal tedavi sonrası hastaların klinik olarak yeniden değerlendirilmesi için 4-8 haftanın uygun olduğu belirtilmiştir (Segelnick ve Weinberg 2006).

Cerrahisiz periodontal tedavi sonucunda periodontal hastalığın şiddeti azaltılır ve ilerlemesi önlenmiş olur. Enflamasyonun azalmasıyla beraber SCD'de azalma ve klinik ataşman kazancı meydana gelir (Cobb 1996, Cobb 2002). Otuz yedi kronik periodontitis hastası ile yapılan 12 aylık bir çalışmada diş yüzey temizliğinden sonra bir seansta tek çeneye kök yüzey düzleştirilmesi işlemi ile bir seansta tüm dişlere kök yüzey düzleştirilmesi işlemi karşılaştırılması yapılmıştır. Çalışma sonunda KAS 4.5±0.8 mm'den 3.4±1.0 mm'ye, SCD ise 4.4±0.6 mm'den 3.3±0.9 mm'ye inmiştir. Ayrıca tek seans tedavi ile 4 ayrı seansta yapılan kök yüzey düzeltilmesi sonuçları arasında fark bulunamamıştır (Knöfler ve ark 2007). Bir başka çalışmada ise 100 kronik periodontitis hastasına uygulanan cerrahisiz periodontal tedavi sonucunda üçüncü. ayda karşılaştırılmalar yapılmıştır. Üç ay

sonra Pİ 1.28±0.50'den 0.60±0.30'a, Gİ 0.91±0.43'den 0.39±0.27'ye, SCD ise 4.81±0.53'den 4.00±0.80'e azalmıştır (Eren ve ark 2002). Biz de bu çalışmamızda kronik periodontitis hastalarına uyguladığımız cerrahisiz periodontal tedavi sonrası 6.ayda S(+) ve S(-) gruplarında SCD, KAS, Pİ ve Gİ değerlerinde başlangıca göre azalma olduğunu belirledik. Sondlama cep derinliğinde meydana gelen azalmalar, uygulanan cerrahisiz periodontal tedavinin klinik olarak başarılı olduğunu göstermektedir. Ancak bazen sondlama sırasında uygulanan kuvvet, sondlama açısı ve sondlama sırasında ölçüm yapılan bölgedeki enflamasyonun şiddetine bağlı olarak hatalı ölçümlerin de olabileceği unutulmamalıdır. Enflamasyonun olduğu bölgelerde ölçüm yapılırken periodontal sond birleşim epitelini geçip bağ dokusuna kadar ilerleyebilir (Armitage 1996). Cerrahisiz periodontal tedavi sonucunda iyileşme genellikle klinik ataşman kazancı ile olmamaktadır. Dişetindeki enflamasyonun azalmasıyla oluşan büzülme sonucunda dişeti çekilmesi gelişir (Listgarten 1980, Hung ve Douglass 2002). Biz de yaptığımız bu çalışmamızda SCD'deki değişimlerin dişeti çekilmesi olarak meydana geldiğini düşünmekteyiz.

Sigaranın yıkıcı periodontal hastalıklarda risk faktörü olduğu ve periodontitisin patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir. İmmün cevap ve fibroblast aktivitesinde olumsuz etkileri vardır (Bergström 2005, Gomes ve ark 2006). Birçok klinik çalışma sigara içen ve içmeyen gruplar arasında klinik cevaplar bakımından farklılıklar saptamışlardır (Dietrich ve ark 2004, Bergström 2005, Shimazaki ve ark 2006). Ancak bazı çalışmalarda ise sigara içen ve içmeyen gruplar arasında farklılıklar bulunamamıştır. Örneğin; cep derinliği, Gİ ve Pİ indeksi bakımından sigara içen ve içmeyenler arasında fark saptanmamıştır (Persson ve ark 2001, Demirer ve ark 2007). Gomes ve ark(2006)'nın yaptığı bir çalışmada ise Pİ ve Gİ bakımından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Bir başka çalışmada da sigara içen ve içmeyen kronik periodontitis hastalarında 3 yıllık bir takip sonucunda SCD, Pİ, sondlamada kanama ve KAS'leri arasında fark olmadığı rapor edilmiştir (Fisher ve ark 2008). Başka bir uzun dönem çalışmada ise sigara içen ve içmeyen periodontitis hastalarının 9 aylık takibinde SCD, KAS ve sondlamada kanama açısından fark olmadığı ortaya çıkmıştır (Pucher ve ark 1997). Uzun dönem takipli 41 kronik periodontitis hastası ile yapılan araştırmada ise 6 ay sonunda sigara içen ve içmeyen bireyler arasında Pİ, KAS ve sondlamada kanama indeksleri arasında fark olmadığı saptanmıştır (Preshaw ve ark 1999). Bizim

yaptığımız bu altı aylık takip çalışmasında da sigara içen ve içmeyen tüm bireylerde, SCD, KAS, Pİ ve Gİ ölçümleri açısından tedavi sonrası 1.,3. ve 6. aylarda azalma gözlendi ancak sigara içen ve içmeyen gruplar arasında faklılık saptanmadı.

Periodontal hastalık aktivitesinin değerlendirilmesinde serum, dişeti dokusu, bakteri plağı ve DOS gibi pek çok örnek kullanılmaktadır. Dişeti oluğu sıvısı, periodontal hastalığın patogenezinde rol oynayan konak kaynaklı enzimleri, doku yıkım ürünlerini ve enflamatuvar mediyatörleri içeriğinde bulundurduğundan en çok kullanılan örnekleme yöntemlerinden biridir (Champagne ve ark 2003). Ancak DOS hacmi hem çok az miktarda, hem de çok değişken olduğundan pek çok örnekleme yöntemi kullanılmıştır (Lamster 1997, Boström ve ark 1999). Günümüzde en çok kullanılan yöntem periodontal cep içine yerleştirilen kağıt şeritlerin 30 s bekletilmesiyle yapılan örnekleme yöntemidir (Lamster 1997, Ataoğlu ve ark 2002). Bu çalışmada da DOS örneklemesi standart kağıt şeritlerin periodontal cep içerinde 30 s bekletilmesiyle yapılmıştır. Ayrıca DOS içindeki enzimlerin ve sitokinlerin konsantrasyonlarına oranla total miktarlarının hastalık aktivitesi ile daha fazla ilişkili olduğu kabul edilmektedir (Nakashima ve ark 1994). Biz de bu çalışmada MMP-2 ve MMP-9'un hem total hem de konsantrasyon miktarlarını değerlendirdik.

Literatürde DOS miktarının periodontal doku yıkımı ve artan akut iltihabi cevap sonucunda arttığı bildirilmiştir (Goodson 2003). Bu çalışmada da hastalık şiddetinin artması ile DOS hacmi (µl) miktarının da arttığı gözlenmiştir. Ancak bu sonuç sigara içen ve içmeyen bireyler arasında sadece 1.ayda anlamlı fark göstererek sigara içmeyen bireylerde daha fazla bulunmuştur. Bunun da sigaranın dişeti damarlarında yarattığı daralma etkisine bağlı olabileceği düşünülmektedir (Morozumi ve ark 2004). Yine bu nedene bağlı olarak biz de çalışmamızda, DOS MMP-2 ve MMP-9'un konsantrasyon miktarları açısından her iki grup arasında fark bulurken total miktarları açısından fark bulamadık.

MMP-2 ve MMP-9; periodontitis hastalarının enflamatuar alanlarındaki doku ve DOS'ta artmış seviyelerde bulunmaktadır (Chen ve ark 2007). Literatürde MMP'lerin DOS'taki seviyeleri ELISA, "Immunablot", "Immunodot", "işaretlenmemiş kollajen substratı", "radyoaktif işaretlenmiş kollajen substratı", "floresan substrat" ve "zymography" yöntemleri kullanılarak araştırılmaktadır (Uitto ve ark 2003). Bu çalışmada ise kullanım kolaylığı, sonuçların hızlı olarak elde edilmesi, yüksek hassasiyeti ve çok sayıdaki örneğin analizini yapabilmesi nedeniyle

ELISA yöntemi kullanılmıştır (Tüter ve ark 2002). ELISA yöntemi MMP-9 ve MMP-2'nin spesifik formlarını tespit edebilir ancak pro-enzim ve aktive edilmiş formlarını tespit edemez (Descamps ve ark 2002).

Matriks metalloproteinazlar; ekstrasellüler matriks bileşenlerinin yıkımında ve dolayısıyla periodontal hastalıkta gözlenen doku yıkımında rol oynamaktadırlar. Jelatinaz A ve B ise periodontal hastalıkta rol oynayan en önemli MMP'lardandır (Makela ve ark 1994). Bu çalışmanın amacı ise, periodontal hastalıkta önemli rol oynadığı bilinen MMP-2 ve MMP-9'un kronik periodontitis hastalarında sigara ile ilişkili olup olmadığını belirlemektir.

Matriks metalloproteinaz-2 ve 9 ile periodontal hastalık ilişkisini ortaya koyan pek çok çalışma bulunmaktadır. Yirmi periodontitis, 18 gingivitis ve 15 sağlıklı kontrolün olduğu bir çalışmada hastalardan salya ve DOS örnekleri toplanmış ve MMP-2 ve MMP-9'un hasta grupta daha yüksek olduğu saptanmıştır (Rai ve ark 2008). Yine başka bir çalışmada ise kronik periodontitis hastalarından alınan dişeti örneklerinde MMP-2 ve MMP-9 yüksek oranda bulunmuştur (Korostoff ve ark 2000). Diğer bir dişeti çalışmasında da hastalıklı dişetinde MMP-2 ve MMP-9 daha yüksek oranda saptanmıştır (Ejeil ve ark 2003). Hollanda'da yapılan bir araştırmada da sağlıklı ve periodontitisli bireylerden DOS, periodontal ligament ve dişeti örnekleri alınmış ve periodontitis grubunda DOS'ta MMP-2 ve MMP-9 daha fazla oranda bulunmuştur (Bildt ve ark 2008).

Literatürde pek çok çalışmada periodontitis hastalarında cerrahi olmayan periodontal tedavi sonucunda DOS MMP-2 ve MMP-9 miktarlarında azalma saptanmıştır. Yirmidört kronik periodontitis hastası ile yapılan bir çalışmada periodontal tedavi sonrasında 2. haftada yapılan değerlendirmelerde DOS MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinde azalma saptanmıştır (Makela ve ark 1994). Bir başka araştırmada ise 13 periodontitis hastasından alınan DOS örnekleri başlangıç, 3 ve 6. aylarda değerlendirilmiş ve MMP-9 miktarında başlangıca göre azalma tespit edilmiştir (Pozo ve ark 2005). Dişeti oluğu sıvısında ELISA ile yapılan bir araştırmada da 27 kronik periodontitis hastasında yüksek oranda bulunan MMP-9'un cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben 3. ayda azaldığı ortaya çıkmıştır (Marcaccini ve ark 2009). Bu çalışmalara benzer bir şekilde bizim araştırmamızda da kronik periodontitis hastalarında cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben

DOS(µl) MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinde 6. ayda başlangıca göre anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir.

Sigara içmenin periodontal hastalıkta rol oynadığı mekanizma hala tam olarak belirlenememiştir. Bunun için pek çok araştırma yapılmaktadır. Bir çalışmada, sigaranın elastaz aktivite seviyesindeki artış üzerine etkisi ve bunun MMP aktivitesi ile ilişkisinin bu nedenlerden biri olabileceği rapor edilmiştir (Neto ve ark 2004). Aynı çalışmada deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlar üzerine sigara ve MMP-2 arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Sağlıklı ve periodontitis olarak iki gruba ayrılan hayvanlarda dişeti dokusunda MMP-2 incelenmiştir ve sonuçta sigaranın periodontitis grubunda MMP-2 seviyesini arttırdığını sağlıklı grupta ise etki etmediğini saptamışlardır (Neto ve ark 2004). Finliler üzerinde yapılan klinik bir çalışmada 47 sigara içen 51 sigara içmeyen toplam 98 bireyden deri, serum ve salya örnekleri toplanmıştır. Sonuçta serumda MMP-2 ve MMP-9'un aktif formları arasında sigara içen ve içmeyenler arasında fark bulunamamıştır. Salya örneklerinde ise MMP-9'un total miktarı sigara içen bireylerde düşük bulunurken aktif formu farklı bulunmamıştır (Raitio ve ark 2005). Karayel ve ark (2009)'nın akciğer üzerine yaptığı klinik araştırmada da alveoler makrofajlarda sigaranın MMP-9'u arttırmadığı belirlenmiştir. Bir hücre çalışmasında ise nikotinin HL-60 hücrelerinden MMP-9 salınımını arttırdığı ancak MMP-2'yi etkilemediği tespit edilmiştir (Xu ve ark 2008). Bu çalışmada ise sigara içen ve içmeyen kronik periodontitis hastalarında MMP-2 ve MMP-9 total miktarları açısından fark bulunamamıştır. Ancak konsantrasyon miktarları açısından fark gözlenmiştir. Bu da başlangıç periodontal tedaviden sonra DOS hacminin azalmasına bağlı olarak açıklanabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1- Kronik periodontitisli hastalarda cerrahi olmayan periodontal tedavi sonucunda klinik parametrelerde iyileşme gözlendi ve bu etki altı ay izlendi.

2- Cerrahi olmayan periodontal tedavi ile kronik periodontitisli bireylerde DOS'ta MMP-2 ve MMP-9 total miktarlarında azalma gözlendi ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Konsantrasyon miktarlarında ise tedavi sonrası düşüş anlamlı olarak bulundu.

3- Sigara kullanan ve kullanmayan kronik periodontitisli bireylerde cerrahisiz periodontal tedavi sonucunda klinik parametreler açısından iki grup arasında fark bulunamadı.

4- Sigara içen ve içmeyen bireyler arasında MMP-2 ve MMP-9 total miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Ancak konsantrasyon miktarları bakımından MMP-2 ve MMP-9'da fark bulundu.

5- Bu çalışmada elde edilen bulgular ışığında başlangıç periodontal tedavinin sigara içen ve içmeyen kronik periodontitisli bireylerde etkili olduğu ve sigaranın kronik periodontitis hastalarında DOS MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri üzerine etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Biyokimyasal bilgilere yeni bilgilerin eklenmesiyle periodontal hastalıkta doku yıkım mekanizmalarının ve bazı enflamatuvar hastalıkların patogenezinin daha iyi anlaşılması sağlanabilir. Sigaranın, periodontal hastalığın patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir ancak mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır. Daha önce pek çok çalışmada sigaranın ve MMP'ların periodontitis üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırmamızda, DOS MMP-2'nin ve MMP-9'un total miktarlarının tedavi öncesi yüksek olması bu moleküllerin periodontal hastalık aktivitesinin değerlendirilmesinde önemli olabileceğini göstermektedir. Biz bu çalışmamızda, sigara ile MMP-2 ve MMP-9 ilişkisine bakarak, sigaranın etki mekanizmalarına yeni bir hipotezi ekleyebileceğimizi düşündük, ancak bir ilişki bulamadık. İleride yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6.ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sigara Kullanımının Kronik Periodontitisli Hastalarda Dişeti Oluğu Sıvısı MMP-2 ve MMP-9 Düzeylerine Etkisi

Dt. Şükran Burcu Yiğit

Periodontoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2010

Bu çalışmada kronik periodontitisli bireylerde sigara kullanımının ve cerrahi olmayan periodontal tedavinin, dişeti oluğu sıvısı (DOS) Matriks metalloproteinaz-(MMP)-2 ve (MMP-9) düzeyleri üzerine etkisini belirlemek amaçlanmıştır.

Çalışma grubu kronik periodontitis teşhisi konulmuş, sigara kullanan ve kullanmayan, 35 yaş üstü, 4 bayan 35 erkek toplam 39 gönüllüden oluşturuldu. Cerrahi olmayan periodontal tedavi öncesinde sondlama cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), plak indeksi (Pİ) ve gingival indeks (Gİ) skorları kaydedildi. Her hastanın en derin dört periodontal cebinden DOS örnekleri toplandı. Başlangıç ölçümleri ve DOS örnekleri alındıktan sonra çalışmaya dahil edilen tüm bireylere diş yüzey temizliği ve kök yüzey düzleştirmesi (KYD) işlemlerinden oluşan cerrahisiz periodontal tedavi uygulandı. Cerrahisiz periodontal tedaviden sonra 1.ay, 3.ay ve 6.ayda klinik periodontal değerlendirmeler ve DOS örneklemeleri tekrarlandı. DOS MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlendi. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda cerrahi olmayan periodontal tedavinin klinik parametrelerde düzelmeye neden olduğu gözlendi ($p<0.05$). Sigara içen ve içmeyen gruplarda tedaviden sonra DOS MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinin azaldığı ($p<0.05$) ancak sigara içen ve içmeyen bireyler arasında MMP-2 ve MMP-9 total miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Ancak konsantrasyon miktarları bakımından MMP-9'da 1. ve 3. aylarda fark bulundu ($p<0.05$), MMP-2'de ise fark bulunamadı ($p>0.05$).

Bu çalışmanın sınırları içerisinde; başlangıç periodontal tedavinin sigara içen ve içmeyen kronik periodontitisli bireylerde etkili olduğu ve sigaranın kronik periodontitis hastalarında DOS MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri üzerine etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kök yüzey düzleştirmesi, sigara, matriks metalloproteinaz, dişeti oluğu sıvısı.

7.SUMMARY

The Effect of Cigarette Smoking on Gingival Crevicular Fluid MMP-2 and MMP-9 Levels in Chronic Periodontitis Patients

The objective of this study was to evaluate the effect of cigarette smoking on gingival crevicular fluid (GCF) matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 levels in chronic periodontitis patients.

Study population consisted of smoker or non-smoker aged≥35, 4 females, 35 males,39 volunteers who were diagnosed with chronic periodontitis. Before non-surgical periodontal treatment, probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), plaque index (PI) and gingival index (GI) were recorded. GCF samples were obtained from the four deepest pocket of all patients. Following baseline measurements and GCF sampling non-surgical periodontal treatment including scaling and root planning (SRP) was performedon all patients. Clinical measurements and GCF sampling were repeated at 1st, 3rd and 6th month following non-surgical periodontal treatment. GCF MMP-2 and MMP-9 levels were determined by ELISA method. Statistical analysis of data revealed that non-sorgical periodontal treatment improved clinical parameters ($p<0.05$). After treatment, GCF MMP-2 and MMP-9 levels reduced in the cigarette smoking or non-smoking groups ($p<0.05$) but MMP-2 and MMP-9 total amounts in both group were not different statistically ($p>0.05$). But the consantration amounts of MMP-9 were different at 1st and 3rd months ($p<0.05$). The consantration amounts of MMP-2 were not different ($p>0.05$).

Within the limitations of the present study, it can be concluded that non-surgical periodontal treatment has be effective in chronic periontitis patients with smoking or non-smoking but smoking has not to be effective on levels of GCF MMP-2 and MMP-9.

Keywords: Scaling and root planning, cigarette, matrix metalloproteinase, gingival crevicular fluid.

8.KAYNAKLAR

1.Adriaens PA, Adriaens LM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. Periodontol 2000, 2004; 36: 121-45.

2.Anchong R, Nishimura I, Ramachandran H, Howell TH, Fiorellini JP, Karimbux NY. J Periodontol, 2003; 74: 494-500.

3.Apatzidou DA, Kinane DF. Quadrant root planning versus same-day fullmouth root planning. J Clin Periodontol, 2004; 31: 152-159.

4.Armitage GC. Periodontal disease: diagnosis. Ann Periodontol, 1996; 1: 37.

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

6.Ataoğlu H, Alptekin NÖ, Haliloğlu S, Gürsel M, Ataoğlu T, Serpek B, Durmuş E. Interleukın-1β, tumor necrosis factor-α levels and neutrophil elastase activity in peri-implant cervicular fluid. Clin Oral Impl Res, 2002; 13: 470-6.

7.Aykut A. Sigaranın sistemik etkileri. Diş Hek Klin Derg, 2000; 13: 163-6.

8.Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy: I. Moderately advanced periodontitis. J Clin Periodontol,1981; 8: 57-72.

9.Bergström J, Elliasson S. Cigarette smoking and alveoler bone height in subjects with high standard of oral hygiene. J Periodontol, 1987;14: 466-9.

10.Bergström J, Elliasson S, Preber H. Cigarette smoking and periodontal bone loss. J Periodontol, 1991; 62: 242-6.

11.Bergström J, Elliasson S, Dock J. A 10- Year prospective study of tobacco smoking and periodontal health. J Periodontol, 2000; 71: 1338-1347.

12.Bergström J. Tobacco smoking and subgingival dental calculus. J Clin Periodontol, 2005; 32: 81-8.

13.Bildt MM, Bloemen M, Kuijpers-Jagtman AM, Von den Hoff JW. Collagenolytic fragments and active gelatinase complexes in periodontitis. J Periodontol, 2008; 79: 1704-1711.

14.Birkedal HH. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. J Periodontol, 1993; 64: 474-484.

15.Birkedal HH. Host mediatedextracelluler matrix destruction by metalloproteinases in "Molecular pathogenesis of periodontal disease" In: Genco R, editor. Molecular pathogenesis of periodotal disease, 3rd Ed, Washington DC, American Society for Microbiology,1994, 191-7.

16.Boström L, Linder LE, Bergström J. Clinical expresion of TNF-α in smoking associated periodontal disease. J Clin Periodontol, 1998; 25: 767-773.

17.Boström L, Linder LE, Bergström J. Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-α in periodontal disease. J Clin Periodontol, 1999; 26: 352-7.

18.Boström L, Bergström J, Dahlen G, Linder LE. Smoking and subgingival mikroflora in periodontal disease. J Clin Periodontol, 2001; 28: 212-9.

19.Bulkacz J, Carranza FA. Defense mechanisms of the gingiva In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, editors. Clinical Periodontology, 9th Ed, New York, WB Saunders Company, 2002, 254-262.

20.Champagne CME, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. Periodontology 2000,2003; 31: 167-180.

21.Chen D, Wang Q, Ma ZW, Chen FM, Chen Y, Xie GY, Wang QT, Wu ZF. MMP-2, MMP-9 and TIMP-2 gene polymorphisims in Chinese patients with generalized agressive periodontitis. J Clin Periodontol, 2007; 34: 384-9.

22.Cobb CM. Non-Surgical Pocket Therapy. Ann Periodontol, 1996; 1: 443-90.

23.Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: An evidence-based perspective of scaling and root planning. J Clin Periodontol, 2002; 29(2): 6-16.

24.Cosyn J, Sabzevar MM. A systematic review on the effects of subgingival chlorhexidine gel administration in the treatment of chronic periodontitis. J Periodontol, 2005; 76: 1805- 1813.

25.D'Alonzo RC, Selvamurugan N, Krane SM, Partridge NC. Bone proteinases In: Krane SM, editor. Princibles of Bone Biology, 2nd Ed, New York, Academic Pres, 2002, 251-259.

26.Demirer S, Marakoğlu I, Poyraz O. Sigara içen ve içmeyen bireylerde başlangıç periodontal tedavinin dişeti oluğu sıvısı tümör nekroz faktör-α düzeyleri üzerine etkisi. SÜ Dişhek Fak Derg, 2007; 16: 7-14.

27.Descamps FJ, Martens E, Opdenakker G. Analysis of gelatinases, in complex biological fluids and tissue extracts. Lab Invest, 2002; 82: 1607-1608.

28.deSouza AP, Trevilatta PC, Scarel-Camigana RM, deBrito RB Jr, Barros SP, Line SR. Analysis of the MMP-9 (C-1562T) and TIMP-2 (G-418C) gene promoter polymorphisims in patients with chronic periodontitis. J Clin Periodontol, 2005; 32: 207-11.

29.Dietrich T, Bernimoulin JP, Glynn RJ. The effect of cigarette smoking on gingival bleeding. J Periodontol, 2004; 75: 16-22.

30.Drisko CH. Nonsurgical periodontal therapy. Periodontol 2000, 2001; 25: 77-88.

31.Ejeil AL, Tchen SI, Ghomrasseni S, Pellat B, Godeau G, Gogly B. Expression of matix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in healthy and diseased human gingiva. J Periodontol, 2003; 74: 188-195.

32.Erdemir EO, Sayın B, Demirer S, Nalçacı R, Mısıroğlu M. sigara içen ve içmeyen kronik periodontitisli hastalarda klinik bulgular ve şüpheli periodontal patojenlerin multipleks PZR ile belirlenmesi. Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi, 2007; 10(2): 77-81.

33.Eren KS, Gürgan CA, Bostanci HS. Evaluation of non-surgical periodontal treatment using 2 time intervals. J Periodontol, 2002; 73: 1015-1019.

34.Erley KJ, Swiec GD, Herold R, Bisch FC, Peacock ME. Gingival recession treatment with connective tissue grafts in smokers and non-smokers. J Periodontol, 2006; 77: 1148-1155.

35.Ezzo P, and Cutler CW. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease.. Periodontology 2000, 2003;. 32: 24-35.

36.Fisher S, Kells L, Picard JP, Gelskey SC, Singer DL, Lix L, Scott DA. Progression of periodontal disease in a maintenance population of smokers and non-smokers: A 3-year longitudinal study. J Periodontol, 2008; 79: 461-468.

37.Flemming TF. Periodontitis. Ann Periodontol, 1999; 4: 32-37.

38.Gomes SC, Piccinin FB, Oppermann RV, Susin C, Nonnenmacher CI, Mutters R, Marcantonio RAC. Periodontal status in smokers and never-smokers: clinical findings and real-time polymerase chain reaction quantification of putative periodontal pathogens. J Periodontol, 2006; 77: 1483-90.

39.Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. Periodontol 2000, 2003; 31: 43-54.

40.Graswinckel JEM, van der Velden U, van Winkelhoff AJ, Hoek FJ, Loss BG. Plasma antibody levels in periodontitis patients and controls. J Clin Periodontol, 2004; 31: 562-568.

41.Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, et al. Assesment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. J Periodontol, 1994;65: 260-267.

42.Güntsch A, Erler M, Preshaw PM, Sigusch BW, Klinger G, Glockmann E. Effect of smoking on crevicular polymorphonuclear neutrophil function in periodontally healthy subjects. J Periodont Res, 2006; 41: 184-8.

43.Haake SK. Periodontal Microbiology In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, editors. Clinical Periodontology, 9th Ed, New York, WB Saunders Company, 2002, 96-112.

44.Haber J, Kent RL. Cigarette smoking in a periodontal practice. J Periodontol, 1992; 63: 100-106.

45.Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R. Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. J Periodontol, 1993; 64: 16-23.

46.Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontol 2000, 1994; 5: 78-111.

47.Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. J Clin Periodontol, 2001; 28: 283-295.

48.Hung HC, Douglass CW. Meta-analysis of the effect of scaling and root planning, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. J Clin Periodontol, 2002; 29: 975-86.

49.Işımer Y, Özdemir A, Kansu A, Akça E. Sigaranın Periodontal Dokular Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi. Ankara Üniversitesi Dişhekimliği fakültesi dergisi, 1997; 24: 41-6.

50.Jervøe-Storm PM, Seman E, AlAhdab H, Engel S, Fimmers R, Jepsen S. Clinical outcomes of quadrant root planning versus full-mouth root planning. J Clin Periodontol, 2006; 33: 209-15.

51.Johnson GK, Hill M. Cigarette Smoking And The Periodontal Patient. J Periodontol, 2004; 75: 196-209.

52.Kanehira T, Shibata K, Kashiwazaki H, Inoune N, Manabu M. Comparison of antioxidant enzymes in saliva of elderly smokers and non smokers. Gerodontology, 2006; 23: 38-42.

53.Karayel F, Pakis I, Akçay Turan A, Öz B, Çelik S. Assesment of smoking related pathologic changes and MMP-9, TIMP-1 expressions of lung. Tuberk Toraks, 2009; 57: 129-35.

54.Keles GC, Gunes S, Sumer AP, Sumer M, Kara N, Bagci H, Koprulu H. Association of matrix metalloproteinase-9 promoter gene polymorphism with chronic periodontitis. J Periodontol, 2006; 77. 1510- 1514.

55.Kerdvongbundit V, Wiskesjö ME. Effect of smoking on periodontal health in molar teeth. J Periodontol, 2000; 71: 433-7.

56.Knöfler GU, Purschwitz RE, Jentsch HFR. Clinical evaluation of partial- and full-mouth scalingin the treatment of chronic periodontitis. J Periodontol, 2007; 78: 2135-42.

57.Korostoff JM, Wang JF, Sarment DP, Stewart JCB, Feldman RS, Billings PC. Analysis of *in situ* protease activity in chronic adult periodontitis patients: Expression of activated MMP-2 and a 40 kDa serin protease. J Periodontol, 2000; 71: 353-360.

58.Kraal JH, Kenney EB. The response of polymorphonuclear leukocytesto chemotactic stimulation for smokers and non-smokers. J Periodont Res, 1979; 14: 383-389.

59.Kuper H, BoffettaP, Adami HO. Tobacco use and canser causation: association by tumour type. J Intern Med, 2002; 252: 206-224.

60.Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. Ann Periodontol, 1997; 2: 123-137.

61.Liede KE, Haukka JK, Hietanen JHP, Mattila MH, Rönkä H, Sorsa T. The association between smoking cessation and periodontal status and salivary proteinase levels. J Periodontol, 1999; 70: 1361-8.

62.Lindhe J, Ericsson I. Effect of ligature placement and dental plaque on periodontal tissue breakdown in the dog. J Periodontol, 1978; 49: 343-350.

63.Listgarten MA. Periodontal probing: What does it mean? J Clin periodontol, 1980; 7: 165.

64.Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infections. Oral Sci Rev, 1976; 9: 65-107.

65.Loesche WJ, Syed SA, Schmidt E, Morrison EC. Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. J Periodontol, 1985; 56: 447-456.

66.Loomer PM. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal disease. Periodontol 2000, 2004; 34: 49-65.

67.Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: Do they exist in gingival crevice fluid? Periodontolgy 2000, 2005; 39: 53-72.

68.Löe H. The gingival index, the plque index and the retention index systems. J Periodontol, 1967; 38: 610-6.

69.Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. Acta Odontol Scand, 1963;21: 533-551.

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

71.Machuca G, Rosales I, Lacalle JR, Machuca C, Bullon P. Effect of cigarette smoking on periodontal status of healthy young adults. J Periodontol, 2000; 71: 73-78.

72.Makela M, Salo T, Uitto VJ, Larjava H. Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity: Cellular origin and relationship to periodontal status. J Dent Res, 1994; 73: 1397-1406.

73. Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, de Sousa TS, Taba M, Teofilo JM, Jacob- Ferreira ALB, Janus- Santos JE, Novaes AB, Gerlach RF. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2 and MPO decrease after periodontal therapy. J Clin Periodontol, 2009; 10: 1-11.

74.Mariggio MA, Laforgia A, Santacroce R, Curci E, Montemurro P, Fumarulo R. Nicotine effects on polymorphonuclear cell apoptosis and lipopolisaccharide-induced monocyte functions. A possible role in periodontal disease? J Periodont Res, 2001; 36: 32-9.

75.Martinez- Canut P, Lorca A, Magan R. Smoking and periodontal disease severity. J Clin Periodontol, 1995; 22: 743-9.

76.McLaughlin WS, Lovat FM, Macgregor ID, Kelly PJ. The immediate effects of smoking on gingival fluid flow. J Clin Periodontol, 1993; 20: 448-451.

77.Mızrak T, Kaya FA. Sigara kullanımının periodontal dokular üzerine olan etkisi. Dicle Tıp Dergisi, 2005; 32(2): 102-7.

78.Morozumi T, Kubota T, Sugita N, Hagaki M, Yoshie H. Alterations of gene expression in human neutrophils induced by smoking cessation. J Clin Periodontol, 2004; 31: 1110-6.

79.Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. Biol Chem, 1997; 378: 151-160.

80.Nakashima K, Demeurisse C, Cimasoni G. The recovery efficiency of various materials for sampling enzymes and polymorphonuclear leukocytes from gingival crevices. J Clin Periodontol, 1994; 21: 479-483.

81.Neto JBC, de Souza AP, Barbieri D, Moreno H, Sallum EA, Nociti FH. Matrix metalloproteinase-2 may be involved with increased bone loss associated with experimental periodontitis and smoking: A study in rats. J Periodontol, 2004; 75: 995-1000.

82.Novak MJ. Classification of diseases and conditions affecting the periodontium. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, editors. Clinical Periodontology, 9th Ed, New York, WB Saunders Company, 2002, 64-73.

83.Novak KF, Novak MJ. Risk assesment. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, editors. Clinical Periodontology, 9th Ed, New York, WB Saunders Company, 2002, 469-474.

84.Ojima M, Hanioka T, Tanaka K, Inoshita E, Aoyama H. Relationship between smoking status and periodontal conditions: Finfings from national databases in Japan. J Periodont Res, 2006; 41: 573-579.

85.Pabst MJ, Pabst KM, Collier JA, Coleman TC, Godat MS, Waring MB, Babu JP. Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. J Periodontol, 1995; 66: 1047-1055.

86.Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. J Periodont Res, 1991; 26: 230-242.

87.Page RC. Host response tests for diagnosing periodontal diseases. J Periodontol, 1992; 63: 356-66.

88.Persson L, Bergström J, Ito H, Gustafsson A. tobacco smoking and neutrophil activity in patients with periodontal disease. J Periodontol, 2001; 72: 90-5.

89.Pozo P, Valenzuella MA, Melej C, Zaldivar M, Puente J, Martinez B Gamonal J. Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. J Periodont Res, 2005; 40: 199-207.

90.Preber H, Bergström J, Linder LE. Occurence of periopathogens in smoker and non-smoker patient. J Clin Periodontol, 1992; 19: 667-671.

91.Preber H, Linder LE, Bergström J. Peridontal healing and periopathogenic microflora in smokersand non-smokers. J Clin Periodontol, 1995; 22: 946-952.

92.Preshaw PM, Lauffart B, Zak E, Jeffcoat MK, Barton I, Heasman PA. Progrssion and treatment of chronic adult periodontitis. J Periodontol, 1999; 70: 1209-1220.

93.Preston A. Extracellular matrix proteases & proteins tecnical guide. Oncogene™ research products, 2002; 2: 1-19.

94.Pucher JJ, Shibley O, Dentino AR, Ciancio SG. Results of limited initial periodontal therapy in smokers and non-smokers. J Periodontol, 1997; 68: 851-6.

95.Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. J Oral Sci, 2008; 50: 53-6.

96.Raitio A, Tuomas H, Kokkonen N, Salo T, Sorsa T, Hanemaaijer R, Oikarinen A. levels of matrix metalloproteinase-2, -9 and -8 in the skin, serum and saliva of smokers and non-smokers. Arch Dermatol Res, 2005; 297: 242-8.

97.Rivera-Hidalgo F. Smoking and periodontal disease. A review of the literature. J Periodontol, 1986; 57: 617-624

98.Romanelli R, Mancini S, Loschinger C, Overall CM, Sodek J. McCulloch CA. Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. Infect Immun, 1999; 67: 2319-26.

99.Rosa GM, Lucas GQ, Lucas ON. Study of the crevicular fluid flow rate in smokers. Acta Odontol Latinoam, 2000; 13: 51-60.

100.Sang QA, Bodden MK, Windsor LJ. Activation of human progelatinase A by coolagenase and matriysin: Activation of procollagenase by matrilysin. J Pro Chem, 1996;15: 243-253.

101.Segelnick SL, Weinberg MA. Reevaluation of initial therapy: When is the appropriate time? J Periodontol, 2006; 77: 1-4.

102.Seymour GT, Taylor JJ. Shouts and whispers: An introduction to immunoregulation in periodontal disease. Periodontol 2000, 2004; 35: 9-13.

103.Shimazaki Y, Siato T, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M, Yamashita Y. The influence of current and former smoking on gingival bleeding: The Hisayama Study. J Periodontol, 2006; 77: 1430-5.

104.Silness J, Löe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal co ndition. Acta Odontol Scand, 1964; 22. 121-135.

105.Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. J Clin Periodontol, 1979; 6: 351-382.

106.Starkey PM, Barrett AJ. Inhibition by alpha-macroglobulin and other serum proteins. Biochem J, 1973; 131: 823-831.

107.Swierkot K, Nonnenmacher CI, Mutters R, Flores- de- Jacoby L, Mengel R. One-stage full-mouth disinfection versus quadrant and full-mouth root planning. J Clin Periodontol, 2009; 36: 240-9.

108.Tatakis DN, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis II. Identification of ‘ High-responder’ and ‘low-responder’ subjects. J Clin Periodontol, 2004 (a); 31: 239-252.

109.Tatakis DN, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis III. Response of 'high responders' and 'low-responders' to therapy. J Clin Periodontol, 2004 (b); 31: 253-9.

110.Tipton DA, Dabbous MK. Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. J Periodontol, 1995; 66: 1056-1064.

111.Turnbull B. Smoking and periodontal disease. A review. JNZ Soc Periodontol, 1995; 79: 10-5.

112.Tüter G, Kurtiş B, Serdar M. Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1. J Periodontol, 2002; 73: 487-493.

113.Uitto VJ. Gingival crevice fluid-an introduction. Periodontol 2000, 2003; 31: 9-11.

114.Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. Periodontol 2000, 2003; 31: 77-104.

115.Vasala K, Kuvajo P, Turpeenniemi-Hujanen T. Low circulating levels of proMMP-2 are associated with adverse prognosis in bladder cancer. Tumor Biol, 2008; 29: 279-86.

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

117.Xu M, Scott JE, Liu KZ, Bishop HR, Renaud DE, Palmer RM, Soussi-Gounni A, Scott DA. The influence of nicotine on graulocytic differentiation-inhibition of the oxidative burst and bacterial killing and increased matrix metalloproteinase-9 release. BMC Cell Biol, 2008; 15: 9-19.

118.Zambon JJ, Grossi SG, Machtei EE, Ho AW, Dunford R, Genco RJ. Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. J Periodontol, 1996; 67: 1050-4

9. ÖZGEÇMİŞ

01.01.1980'de Ankara'da doğdu. İlk öğrenimini Aydınlıkevler İlkokulu, ortaokulu Cumhuriyet Lisesi Orta kısımı ve lise öğrenimini Çankaya Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'nde tamamladıktan sonra 1998 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2003 yılında mezun oldu. 2004 yılının Eylül ayı döneminde Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalı'nda doktora öğrencisi ve araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır. Evli ve bir çocuk sahibidir.