

**T.C.**  
**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**  
**DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**  
**AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN YIRMİ YAŞ DİŞİNİN GÖMÜLÜ  
KALMASI ÜZERİNE ETKİSİNİN DENTİN DOKUSUNDA  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Hasan KÜÇÜKKOLBAŞI**

**HAZIRLAYAN**  
**NAGEHAN BURCU BAYRAK**

**KONYA, 2016**

**T.C.**  
**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**  
**DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**  
**AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN YIRMI YAŞ DİŞİNİN GÖMÜLÜ  
KALMASI ÜZERİNE ETKİSİNİN DENTİN DOKUSUNDA  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Hasan KÜÇÜKKOLBAŞI**

**HAZIRLAYAN**  
**NAGEHAN BURCU BAYRAK**

Bu Araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü  
Tarafından 11401168 Proje Numarası İle Desteklenmiştir.

**KONYA, 2016**

## ÖNSÖZ

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi uzmanlık eğitimim boyunca değerli tecrübelerini, zamanını ve desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen, değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Hasan Küçükkolbaşı'na;

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi uzmanlık eğitimim süresince pratik ve teorik olarak tecrübe ve deneyimlerini benimle paylaşarak bana katkısı olan tüm öğretim üyesi hocalarıma, birlikte çalıştığımız hemşire ve personelimize;

Hem eğitimim hem de zorlu tez dönemimde bana zaman ayıran ve her zaman desteğini hissettiren, birçok güzel anı biriktirdiğimiz çok kıymetli arkadaşlarım

Dt. Şeyma Mermutlu, Dt. Nurdan Kafalı Ünsal ve Dt. Melike Kan'a ;

Hayat boyu her durumda yanımda, sonsuz sabır ve sevgileri ile bana destek olan sevgili annem, babam ve kardeşime;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nagehan Burcu BAYRAK

## İçindekiler

ÖNSÖZ .....	1
1. GİRİŞ .....	7
1.1. Gömülü Yirmi Yaş Dişleri .....	7
1.1.1. Yirmi Yaş Dişlerinin Gelişimi .....	7
1.1.2. Dişlerin Gömülü Kalma Nedenleri .....	8
1.1.3. Gömülü Yirmi Yaş Dişlerinin Sınıflandırılması.....	9
1.1.4. Gömülü Yirmi Yaş Dişlerinin Çekim Endikasyonları.....	13
1.2. Dentinin Yapısal Özellikleri.....	14
1.2.1. Dentinin Histolojik Yapısı .....	14
1.2.2. Dentinin Kimyasal Yapısı.....	16
1.3. Matriks Metalloproteinazlar (MMP) .....	17
1.3.1. Matriks Metalloproteinaz Enzimlerinin Düzenlenmesi.....	23
1.3.2. Matriks Metalloproteinazların Diş Gelişimi ve Sürmesindeki Rolü .....	26
2. GEREÇ VE YÖNTEM .....	29
2.1. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması .....	29
2.2. Protein Array Analizi İçin Dişlerin Hazırlanması .....	29
2.2.1. Kuronal dentin örneklerinden proteinlerin izolasyonu .....	33
2.2.2. Protein Miktar Tayini.....	34
2.3. Protein Array Uygulaması.....	35
3. BULGULAR .....	37
3.1. Araştırma Sonuçları.....	37
3.2. İstatistiksel Analiz .....	38
4. TARTIŞMA .....	42
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	54
6. KAYNAKLAR .....	55
7. EKLER.....	68
8. ÖZGEÇMİŞ .....	71

## ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

### **Matriks Metalloproteinazların Yirmi Yaş Dişinin Gömülü Kalması Üzerine Etkisinin Dentin Dokusunda Araştırılması**

**Nagehan Burcu BAYRAK**

**Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı**

**UZMANLIK TEZİ / KONYA-2016**

Yirmi yaş dişleri çeşitli lokal ve sistemik sebeplerle gömülü kalmaktadır. Gömülü dişlerin beraberinde perikoronitis, kist veya tümör lezyonları, komşu dişte kök rezorbsiyonu veya enfeksiyon gibi farklı patolojiler ortaya çıkabilir. Bu gibi durumlar gömülü dişlerin çekilmesini zorunlu kılar.

Bu tez çalışmasında; yirmi yaş dişlerinin gömülü kalması üzerinde dişin dentin dokusundaki matriks metalloproteinazların (MMP) etkinliği bisinkoninik asit analizi (BSA) ile incelenmiştir. Bu analiz için 50 adet çürüksüz sürmüş ve 50 adet kemik/mukoza retansiyonlu gömülü diş toplanmıştır. Bu dişlerin kök kısmı, mine ve pulpa dokuları uzaklaştırıldıktan sonra kalan dentin dokusundan horizontal kesitler (yaklaşık 0,1 mm) alınarak dişler öğütme işlemine hazırlanmıştır. Sonrasında, mermer bir havan içine alınan dentin kesitleri sıvı azot yardımıyla öğütülerek toz haline getirilmiştir. Elde edilen dentin tozu örneklerinden eşit miktarlarda alınarak (1'er gr) BSA için hazırlandı. Bu analiz ile bir membran üzerinde on farklı MMP incelenmekte, bu sayede Western blot gibi geleneksel yöntemlerin zaman kaybı ve maliyet artışı gibi dezavantajlarından kaçınılmaktadır.

BSA ile elde edilen sonuçlara göre sürmüş dişler ile gömülü dişler karşılaştırıldığında MMP-1, MMP-2 ve TIMP-1 değerleri sürmüş dişlerde istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $\alpha= 0.05$  için) yüksek bulunmuştur.

MMP-1, MMP-2 ve TIMP-1 değerlerinin anlamlı derecede yüksek bulunması bu dişlerde sürme basamaklarının sorunsuz işlediğini gösterirken, gömülü dişlerde bu proteinlerin anlamlı ölçüde düşük bulunması gömülü kalma sürecinde bu proteinlerin etkili olabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Bisinkoninik asit analizi, matriksmetalloproteinaz, yirmi yaş dişi

## **SUMMARY**

REPUBLIC of TURKEY  
SELÇUK UNIVERSITY  
FACULTY of DENTISTRY

### **Investigate the Effect of Dentin Matrix Metalloproteinases on Third Molar Impaction**

**Nagehan Burcu BAYRAK**

**Department of Oral and Maxillofacial Surgery**

**SPECIALITY THESIS / KONYA-2016**

Tooth impaction is depend on some local and systemic factors. Various pathologic conditions including pericoronitis, cystic lesion, tumor, dental caries, periodontitis, periapical infection, and root resorption of adjacent teeth may be seen with impacted third molar. Due to these reasons impacted tooth extraction are become compulsory.

The aim of this study is to investigate the effect of matrix metalloproteinases on third molar eruption with bicinchoninic acid assay (BCA). Fifty impacted (bone or mucosa) and fifty intact, erupted third molars were collected. Extracted human third molars were collected with approval by the University of Selçuk. For each tooth, coronal dentine was harvested by removing the root, enamel, and residual pulp tissue fragments. For each tooth, the dentin slices were (approximately 0, 1 mm) obtained by horizontal sectioning using a water-cooled cutting saw. Dentine powder was obtained from teeth by pulverising the coronal dentine in liquid nitrogen with a marble mortar. Dentine powder were taken in equal amounts (1 gr) of each group and prepared for BCA. This analysis provides us detection of ten MMPs in one experiment. This kit provides avoid the some disadvantages of traditional Western blot analysis such as saving time and reducing costs.

According to BCA results, MMP-1, MMP-2 and TIMP-1 value were found significantly higher in erupted tooth group compared with impacted tooth group ( $\alpha=0.05$ ).

To conclude, the affect of MMP-1, MMP-2 and TIMP-1 from the surrounding tissue and dentin in the tooth development stages may support the tooth eruption.

**Keywords:** Bicinchoninic acid assay, matrix metalloproteinases, third molar

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Gömülü Yirmi Yaş Dişleri

Sürme zamanı gelmesine rağmen; çeşitli sistemik ve lokal nedenlerle dental arkta yerini alamayarak kemik içinde veya mukozanın altında kalmış dişler “gömülü diş” olarak adlandırılmaktadır (Ness ve Peterson 2004, Sailer ve Pajarola 2004). En sık gömülü kalan dişler alt yirmi yaş dişleridir. Gömülü kalma sıklığında alt yirmi yaş (%64.7) dişlerini sırasıyla üst yirmi yaş dişleri (%30.9), üst kanin (%3.1), alt kanin (%0.3), alt premolar (%0.4), üst santral (%0.31), üst premolar (%0.2), ve üst lateral dişler (%0.2) takip etmektedir (Waite ve Reynolds 1998, Ness ve Peterson 2004, Damlar ve ark. 2014, Yazıcı ve ark. 2002).

### 1.1.1. Yirmi Yaş Dişlerinin Gelişimi

Yirmi yaş dişlerinin gelişimi (YYD) yaklaşık 5 yaşında ektoderm kökenli ağız epiteli ile embriyonik nöral kabartıdan köken alan çene mezenşimi arasındaki etkileşimler ile başlamaktadır. YYD'lerinin gelişimi, çene kemiğinin büyümesine paralel olarak gerçekleşmektedir (Ten Cate ve ark 2003, Ness ve Peterson 2004). Genetik ve çevresel faktörler çenelerin büyümesini ve dental laminanın hareketini etkileyerek, bu iki dokunun etkileşimlerine ve dolayısıyla yirmi yaş diş oluşumu üzerinde değişimlere neden olabilmektedir. Çevresel faktörlerin ve teratojenlerin diş gelişimi üzerindeki etkileri, dişin şeklinde, genişliğinde ve pozisyonunda değişimler olarak gösterilmektedir (Karadzov ve ark., 1985; Kronmiller ve ark., 1995).

YYD'lerinin mineralizasyonu 8 yaşında başlar ve jermeler 9 yaşında radyografik olarak görünür hale gelir. Tüberkül mineralizasyonu ise bundan yaklaşık 2 yıl sonra tamamlanır. Kron oluşumu genellikle 14 yaşında; köklerin yaklaşık olarak yarısı 16 yaşında; köklerin tamamı ise 18 yaşında gelişmekte ve apeksler de 18-25 yaşlar arasında kapanmaktadır. YYD'lerinin sürmesi genellikle 17-21 yaşları arasında gerçekleşmektedir. Sürme yolu uygun olan YYD'lerinin %95' i 24 yaşında sürmesini tamamlamış olmaktadır (McKern ve Stewart 1957, Richardson 1992, Hattab 1997, Kruger ve ark 2001, Ventä ve ark 2001, Ness ve Peterson 2004, Shetty ve ark 2010).

### 1.1.2. Dişlerin Gömülü Kalma Nedenleri

Önceleri yirmi yaş diş gömülülüğü çok ender iken, filogenetik, ortodontik ve Mendelian teorileriyle açıklanan çene ve diş sistemlerindeki diş genişlikleriyle çene kemiğinin büyüklüğü arasındaki muhtemel bir oransızlık, bu dişlerin sıklıkla gömülü kalmaları ile sonuçlanmıştır. Bu şekilde günümüzde bu dişlerin operasyonları rutin bir işlem haline getirmiştir (Türker 1981, Tetsch ve Wagner 1990, p.:9-10; Lübbers ve ark., 2010). İşlenmemiş sert gıdalardan işlenmiş yumuşak gıdalara geçildikçe, yirmi yaş dişlerin gömülü kalma insidansının arttığını belirtilmektedir (Varrela 1990; Odusanya ve Abayomi, 1991).

Yirmi yaş dişin sürmesi için yeterli yer bulursa da YYD' lerin gömülü kalmasında etkili olabilecek çeşitli lokal ve sistemik faktörler bildirilmiştir (Türker ve Yüçetaş 2004, Zeitler 2004).

#### **Yirmi Yaş Dişlerinin Gömülü Kalmasında Etkili Olan Lokal Nedenler**

1. Süt dişlerinin erken kaybı veya persiste kalması,
2. Çocukluk çağında geçirilen ateşli hastalıklar sonucu çene kemiklerinde meydana gelen değişiklikler,
3. Süpernumere diş varlığı,
4. Malpoze diş jermeleri,
5. Komşu dişin şekil veya konum anomalisi sebebiyle yer darlığı olması,
6. Dental ark uzunluğunun yetersiz olması,
7. Sürme yolunda odontojenik/ odontojenik olmayan tümör, kist gibi patoloji veya enfeksiyon gibi bir etkenin bulunması,
8. Diş çevresinde aşırı yoğunlukta kemik dokusunun bulunması (osteopetrozis gibi),
9. Uzun süreli kronik enfeksiyon sebebiyle dişin sürme yolunda mukozal kalınlaşma olması,
10. Diş jermelerinin travmatik etkenlerle zarar görmüş olması,
11. Kron ve/veya kökte malformasyon varlığı olarak sıralanır.

#### **Yirmi Yaş Dişlerinin Gömülü Kalmasında Etkili Olan Sistemik Nedenler**

##### **1. Prenatal (doğum öncesi) nedenler**

1. Kalıtım,
2. Gebelikte yetersiz/hatalı beslenme,



3. Gebelikte geçirilen spesifik enfeksiyonlardır (sifiliz, tüberküloz).

## **2. Postnatal (doğum sonrası) nedenler**

1. Raşitizm,
2. Endokrin sistem hastalıkları (hipotroidizm, hipopituitarizm),
3. Anemi,
4. Konjenital sifiliz, tüberküloz,
5. Beslenme bozukluğu,
6. Travma,
7. Ateşli hastalıklar,
8. Çene ve çevre doku hastalıkları,
9. Radyoterapi olarak sıralanır.

## **3. Gelişimsel bozukluklar**

1. Damak yarığı, dudak-damak yarığı,
2. Akondroplazi,
3. Progeria,
4. Oksisefali,
5. Kleidokraniyal disositozdur.

### **1.1.3.Gömülü Yirmi Yaş Dişlerinin Sınıflandırılması**

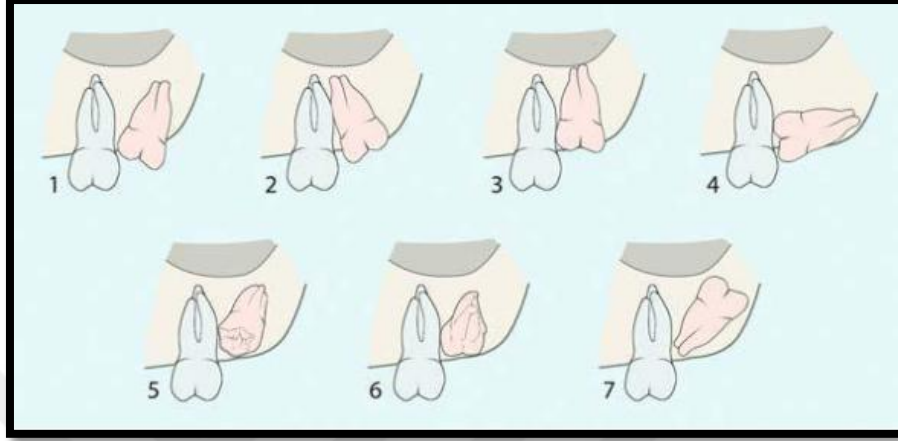
Gömülü dişlerin çenelerdeki pozisyonlarının ortak bir dille tarif edilmesi ve çekim zorluğunun değerlendirilmesi amacıyla çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır.

#### **Gömülü Alt Yirmi Yaş Dişlerinin Sınıflandırılması**

Gömülü alt yirmi yaş dişlerinin (AYYD) mandibuladaki anatomik konumlarının belirlenmesi amacıyla çeşitli sınıflandırmalar kullanılmaktadır. Bu sınıflandırmalar; diş üzerindeki mukozanın tipi, dişin mandibulada anterior, posterior veya inferior yönde açılması, dişin mandibulada ramus ön sınırı ve oklüzal düzlem ile olan ilişkileri göz önünde bulundurularak yapılmıştır.

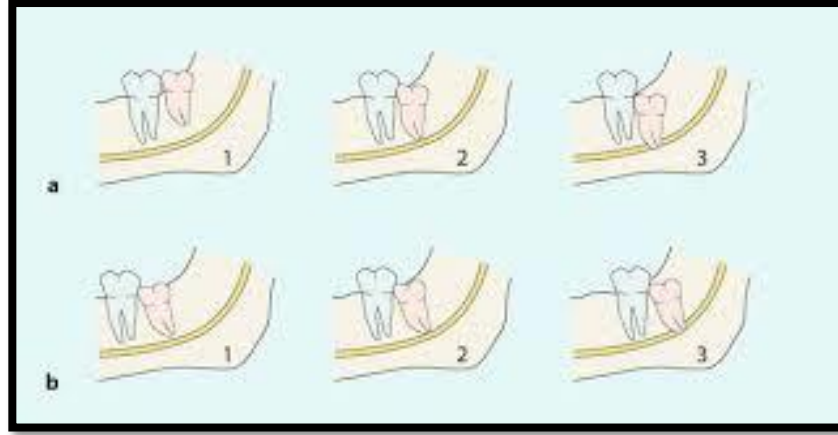
Retansiyon şekillerine ya da diş üzerindeki mukozanın tipine göre gömülü AYYD' leri; tamamen kemik retansiyonlu, kısmen kemik/yumuşak doku retansiyonlu ve yumuşak doku retansiyonlu olmak üzere üç sınıf olarak değerlendirilmektedir (Von Wowern ve Nielsen 1989).

Archer (1975) ve Kruger (1984) isimli araştırmacıların oluşturdukları sınıflamaya göre gömülü alt yirmi yaş dişinin uzun ekseninin, ikinci molar dişin uzun eksenini ile yaptığı açıya göre dişin pozisyonu; vertikal, mezioangular, distoangular, horizontal, bukkoangular, lingoangular ve ters olarak isimlendirilmektedir (Şekil 1.1).



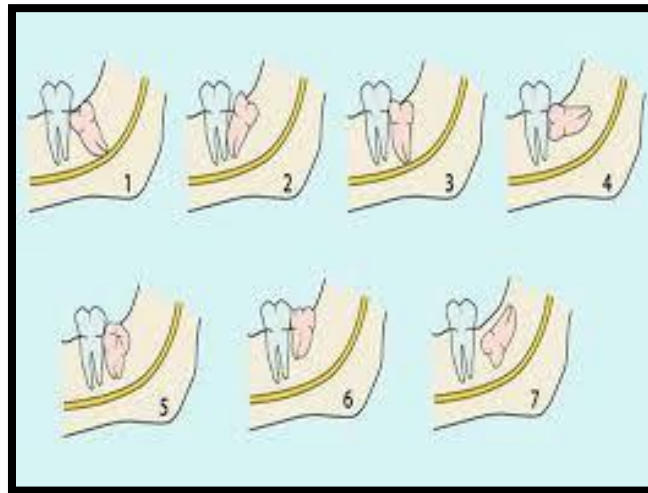
**Şekil 1.1.** Archer (1975) ve Kruger (1984)'e göre gömülü yirmi yaş dişlerin gömülülük sınıflaması: 1 Mezioangular, 2 distoangular, 3 vertikal, 4 horizontal, 5 bukkoangular, 6 lingoangular, 7 ters pozisyonda dişler.

Pell ve Gregory (1933) sınıflamasına göre ise gömülü yirmi yaş dişleri hem oklüzal düzlemlerle olan ilişkilerine hem de ramus ve ikinci molar dişin arasındaki mesafeye göre tanımlanmıştır. Buna göre üç pozisyon belirtilmiştir. Pozisyon A; yirmi yaş dişi ikinci molar dişin oklüzal düzlemiyle aynı seviyede, pozisyon B; yirmi yaş dişi ikinci molar dişin oklüzal düzlem ile servikal bölgesi arasında ve pozisyon C ise; dişi ikinci molar dişin servikal düzeyinin altında olduğunu ifade etmektedir. Pell ve Gregory (1933) yaptıkları sınıflamada yükselen ramus ile ikinci molar dişin distali arasındaki mesafeyi (M3) olarak adlandırdılar. Buna göre; Sınıf I ilişkide M3 mesafesi yirmi yaş dişin meziodistal çapından büyük; Sınıf II ilişkide M3 mesafesi yirmi yaş dişin meziodistal çapına eşit veya çok az farklı; Sınıf III ilişki ise M3 mesafesi yirmi yaş dişin meziodistal çapından oldukça küçük olarak belirtilmiştir (Türker ve Ycetaş, 2004, s.:226-228).



**Şekil 1.2.** Pell ve Gregory'ye göre gömülü alt yirmi yaş dişlerin sınıflaması a: İkinci molarlara yakınlıklarına ve gömülülük derinliğine göre 1 pozisyon A, 2 pozisyon B ve 3 pozisyon C. b: Mandibular ramus ön sınır ile ikinci molar diş arasındaki mesefeye göre 1 Sınıf I, 2 Sınıf II ve 3 Sınıf III.

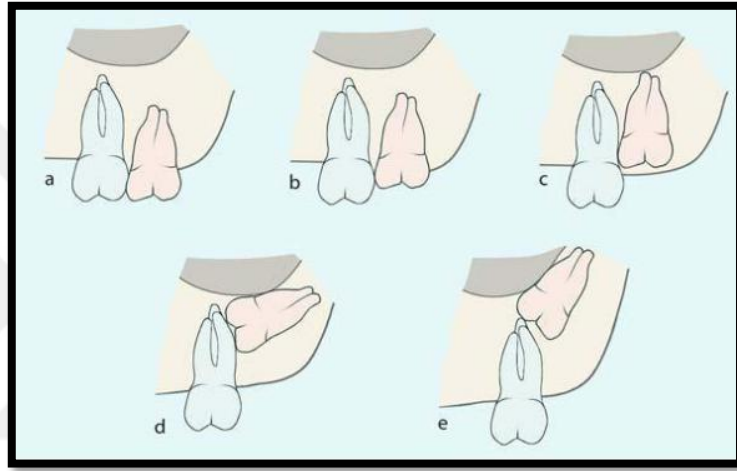
Bir diğer sınıflandırma olan Winter sınıflandırmasında ise; gömülü AYYD'nin açılanması, dişin uzun eksenini ile okluzal düzlem arasındaki açının panoramik radyografi üzerinde ölçülmesi ile belirlenmektedir. Buna göre dişler; vertikal ( $\alpha=61^\circ-90^\circ$ ), meziyoanguler ( $\alpha=0^\circ-30^\circ$ ), distoanguler ( $\alpha>90^\circ$ ), ters ( $\alpha=0^\circ$ ), horizontal, bukkal ve lingual oblik olarak gruplandırılmıştır (Almendros- Marques ve ark 2006).



**Şekil 1.3.** Winter'a göre gömülü alt yirmi yaş dişlerinin sınıflaması. 1: eziyoanguler, 2: distoanguler, 3: vertikal, 4: horizontal, 5: bukkal oblik, 6: lingual oblik, 7: ters konumda bulunan alt yirmi yaş dişleri görülmektedir.

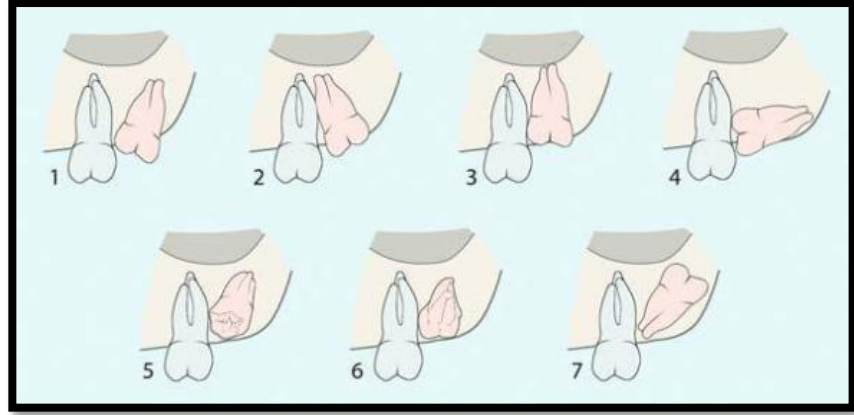
## Gömülü Üst Yirmi Yaş Dişlerinin Sınıflandırılması

Archer (1975) sınıflamasında üst yirmi yaş dişlerin (ÜYYD) gömülülük derinliğini ikinci üst molar dişlere göre değerlendirmiştir. Buna göre Sınıf A, gömülü üst yirmi yaş dişin kronunun üst ikinci molar dişin kesici yüzünden geçen oklüzal çizginin seviyesinde veya biraz altındaki durumunu; Sınıf B, gömülü üst yirmi yaş dişin kronunun ikinci molar dişin oklüzal düzlemi ile servikal çizgisinin arasındaki durumunu; Sınıf C, ise gömülü üst yirmi yaş dişin kronunun ikinci molar dişin servikal çizgisinin altındaki durumunu ifade etmektedir (Şekil 1.4) (Archer, 1975; Türker ve Yüçetaş, 2004, s.:230-232).



**Şekil 1.4.** İkinci molar dişe göre üst yirmi yaş dişlerin gömülülük derinliğinin sınıflandırılması (Archer 1975) a= Sınıf A, b= Sınıf B ve c,d,e = Sınıf C.

Archer (1975) gömülü üst yirmi yaş dişlerini açı ve pozisyonlarına göre; vertikal, mezioangular, distoangular, horizontal, bukkoangular, palatoangular ve ters olarak sınıflandırmıştır (Şekil 1.5) (Türker ve Yüçetaş, 2004, s.:232).



**Şekil 1.5.** Üst yirmi yaş dişlerin gömülülüğünün Archer 'e (1975) göre sınıflandırılması 1 Mezioanguler, 2 distoanguler, 3 vertikal, 4 horizontal, 5 bukkioanguler, 6 palatanguler, 7 ters konumdaki gömülü üst yirmi yaş dişleri.

#### **1.1.4. Gömülü Yirmi Yaş Dişlerinin Çekim Endikasyonları**

1979 yılında National Institute of Health (NIH) tarafından yirmi yaş dişlerinin çekimi ile ilgili şu değerlendirmeler yapılmıştır (NIH 1980):

1. Yirmi yaş çekim endikasyonları arasında; enfeksiyon, restore edilemeyecek çürük lezyonlar, kist, tümör gelişimi, komşu diş ve kemiğin yıkımı bulunmaktadır.
2. Genç hastalarda, çekim sebebiyle gelişen morbidite oranı yaşlı hastalardan daha düşüktür.
3. Hangi durumlarda çekim endikasyonu konulacağına dair çalışmalar yetersizdir.

1998 yılında ise Klinik Mükemmellik Ulusal Enstitüsü (National Institute for Care Excellence, NICE) tarafından, gömülü yirmi yaş dişin çekim endikasyonları arasında; rekürrent perikoronitis, sellülit, apse, osteomyelit, kist ve tümör gibi dental folikül patolojileri, restore edilemeyen çürükler, tedavi edilemeyen pulpal ve /veya periapikal patolojiler, komşu dişin iç ve/veya dış rezorpsiyonu, dişte kırık olması, dişin rekonstruktif çene cerrahisini engellemesi, tümör rezeksiyon sahası içinde bulunması gibi durumlar olduğu bildirilmiştir.

Ayrıca ilk kez oluşan perikoronit olgusunun, şiddetli olmadıkça çekim için bir endikasyon olmadığı da belirtilmiştir (NICE 2000). Bununla birlikte gömülü

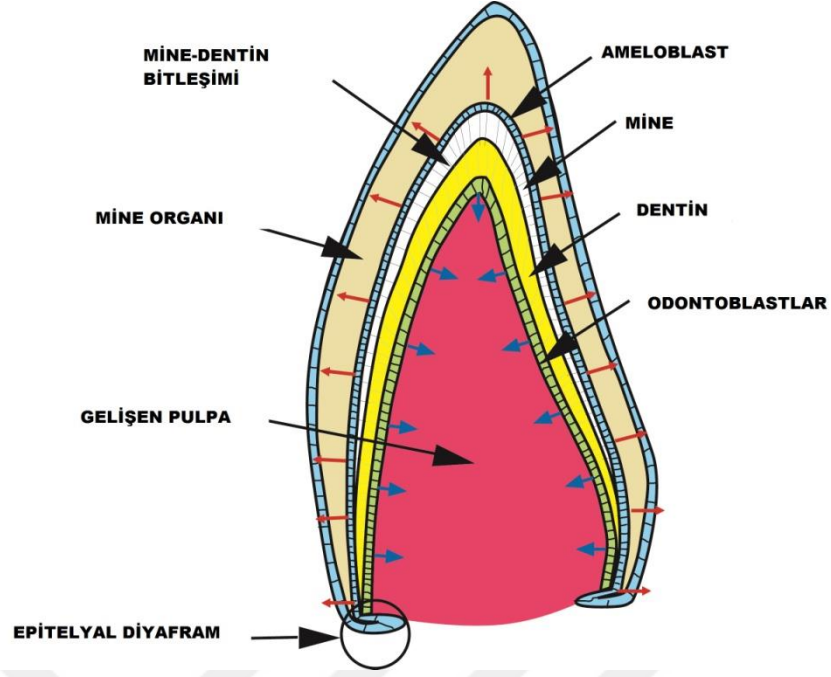
yirmi yaş dişleri ile ikinci molar dişler arasında periyodontal hastalık ve cep gelişimi mevcutsa; bu dişlerin erken dönemde çekiminin periyodontal hasarı azalttığı bilinmektedir. Bu nedenle periyodontal hastalık da cerrahi çekim endikasyonu olarak göz önünde bulundurulmaktadır (Kugelberg ve ark 1991, Stathopoulos ve ark 2011). Sonuç olarak; çekim kararı verilirken her hastanın sağlık durumu, yaşı ve çekilecek dişin komşu yapılarla ilişkisi bireysel olarak dikkatle değerlendirilmelidir (Adeyemo 2006).

## **1.2. Dentinin Yapısal Özellikleri**

Dentin dokusu odontoblast hücrelerinin salgıladığı kollajenden zengin bir organik matriksin mineralizasyonu ile oluşmuştur. Yapısal olarak dentin, mine-dentin sınırından pulpaya kadar uzanan kanal ve kanalcıklar sisteminden oluşur, damar içermez. Krona minenin altında, kökte sementin altında konumlanmış olan dentin dokusu, diş sert dokuları arasında en fazla hacme sahip olan dokudur. Dentin, mineye oranla daha yumuşak bir dokudur ve hafif plastik özellik gösterir. Kronal bölgede mineyi destekler ve kırılmalara karşı direnç sağlar (Swift ve ark 1995, Marshall ve ark 1997, Nakabayashi ve Pashley 1998).

### **1.2.1. Dentinin Histolojik Yapısı**

Dentin yapımından sorumlu olan hücreler odontoblastlardır ve dentinin pulpaya bakan yüzeyini oluştururlar. Odontoblastlar embriyogenezis esnasında ektomezenkimal hücrelerden köken almaktadır. Diş gelişimi sırasında bu hücreler, ameloblastlardan ayrılarak ekstrasellüler matriks salgılar ve hücre uzantıları dentin kanalları içine uzanır (Swift ve ark 1995, Marshall ve ark 1997) (Şekil 1.6)



**Şekil 1.6.** Fracture of Dental Materials, Chapter 4' den alınarak modifiye edilmiştir.

Dentin yapımı (dentinogenezis) iki aşamada gerçekleşir. İlk aşamada kalsifiye olmamış matriks sentezlenir ki; buna 'predentin' denir. İkinci aşama, mineralizasyondur. Yeterli kalınlıkta bir predentin tabakası oluşmadan mineralizasyon başlamaz. Mineralizasyon hızı, matriks oluşumuna paralel seyrederek. Yani, matriks mineralizasyonu tamamlandığında alttaki predentin tabakası da sabit kalır. Dentin oluşumu ve kalsifikasyonu dişlerin kesici kenar ve tüberkül tepelerinde başlar ve içeriye doğru konik tabakalar halinde yığılma gösterir. Kronal ve apikal dentin oluştuğunda primer dentin yapımı tamamlanmış olur (Sasaki ve Garant 1996).

Kök oluşumu tamamlandıktan sonraki süreçte belirgin bir uyarın olmasa da fizyolojik dentin yapımı yavaş yavaş, hayat boyunca, daha az ama düzenli olarak devam eder ve buna 'sekonder dentin' adı verilir (Trowbridge ve ark 2002). Sekonder dentin primer dentinle aynı yapıdadır, aynı odontoblastlardan oluşurlar ve tübüller devamlılık arz eder. Çürük ve restoratif işlemler gibi travma veya irritasyon sonucu pulpa-dentin hattında oluşan dentine; 'irritasyon dentini', irregüler sekonder dentin, reaksiyoner dentin, tamir dentini veya tersiyer dentin adı verilir. Daha hızlı yapılan, daha az mineralize, düzensiz ve daha az tübüler yapı gösteren ve primer dentine göre daha yüksek organik içeriğe sahip dentindir (Avery 2000, Pashley

2002). Bazen pulpa boynuzları üzerinde mine-dentin birleşimine yakın bölgelerde hipermineralize peritübüler dentin, tübülleri tamamen doldurur. Bu dentine sklerotik dentin veya şeffaf dentin denir. Sklerotik dentin minede meydana gelen atrizyon, abrazyon, kırık ve çürük sonucu oluşur, yaşla birlikte sklerotik dentin kalınlığı da artmaktadır (Avery 2000).

### **1.2.2. Dentinin Kimyasal Yapısı**

Dentin mineye göre daha az mineralize bir dokudur. Ağırlıkça %70 inorganik madde, % 18 organik madde ve % 12 su, hacimce ise % 50 inorganik madde, % 25 organik madde ve % 25 su içerir. İnorganik yapı büyük ölçüde hidroksiapatit kristallerinden ve karbonat, kalsiyum fosfat ve sülfat gibi tuzlar ile flor, bakır, demir, çinko gibi eser elementlerden meydana gelmektedir (Towbridge ve ark 2002). Mineye oranla inorganik içeriği daha az ve hidroksiapatit kristallerinin boyutları daha küçük olan dentin dokusu, mineye göre daha yumuşaktır (Sturdevant ve ark 2002). Mine dokusunun mikrosertliği 343 knoop sertlik değeri (KHN) ve elastisite modülü 84 jıgapaskal (Gpa) iken, dentinin mikrosertliği 68 KHN ve elastisite modülü 13-17 Gpa' dır (Sano ve ark 1994, Hall ve ark 2000). Dentin içerisindeki hidroksiapatit kristallerinin boyutları sement ve kemikteki hidroksiapatit kristal boyutlarına benzerlik gösterse de inorganik yapı oranının farklı olması sebebiyle dentin bu dokulardan daha serttir (Rensburg 1995, Sturdevant ve ark 2002). Dentindeki apatit kristallerinde karbonat oranı yüksek, kalsiyum oranı düşüktür.

Dentin matriksi, dentinin organik yapısını oluşturan fibriler ve globuler kompleks bir yapıdır (Marshall ve ark 1997). Organik içerik yüksek oranda kollajenden oluşur. Kollajen yapının büyük kısmı tip I kollajen olmakla birlikte az miktarda tip V kollajen de mevcuttur (Avery 1992, D'Souza 2002). Proteoglikan ve diğer minör kollajen olmayan proteinler organik parçayı tamamlarlar (Linde ve Goldberg 1993, Butler 1995, Embery ve ark 2001, Goldberg ve Smith 2004). Dentinin oluşumu esnasında, bu proteinler odontoblastlar tarafından sentezlenir, salgılanır ve predentin tabakadaki yapısal organizasyondan sonra hidroksiapatit kristalit oluşumuyla mineralizasyon gerçekleşir (Butler 1995). Dentinogenez ve mineralizasyon; aktif ekstrasellüler enzimatik kontrol gerektiren, kompleks gelişimsel fenomenlerdir. Birkaç proteinaz, esas olarak MMP ailesine ait olanlar, bu evrede çok önemli rol üstlenmektedir (Tjäderhane ve ark 2001).



Diş sürmesi sırasında gerçekleşen kemik rezorpsiyonu ve oluşumu için gerekli olan uyarıların, mine organı ve dental folikül gibi yapıların içindeki matriks metalloproteinazlardan (MMP), büyüme faktörleri ve sitokinlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Gorski ve Marks 1992, Marks ve Schroeder 1996). Erüpsiyon sürecinde periyodontal dokularda gerçekleşen ekstrasellüler matriksin (ESM) remodelingi, ESM moleküllerinin üretimi, MMP enzimleri tarafından ESM yıkımı ve MMP enzim aktivitesinin doku inhibitörleri (Tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMP) tarafından durdurulması arasındaki denge yoluyla düzenlenmektedir (Marks ve Schroeder 1996, Bode ve ark 1999, Beertsen ve ark 2002, Maruya ve ark 2003).

Çalışmalar, diş gelişimi ve dentin çürüklerinin oluşumunda MMP'lerin (MMP 2, 3, 8, 9 ve 20) etkin olduğunu ve bunların insan dentin matriksinde mevcut olduğunu göstermektedir (Tjäderhane ve ark 1998, Martin-De Las Heras ve ark 2000, Sulkala ve ark 2001, Sulkala ve ark 2002, Pashley ve ark 2004, Mazzoni ve ark 2006, Carrilho ve ark 2007, Mazzoni ve ark 2007, Sulkala ve ark 2007, Boukpassi ve ark 2008, Breschi ve ark 2010).

MMP'ler, diş gelişimi esnasında mineralize olmuş dentin matriksi içinde kalan çinko (Zn) ve kalsiyum (Ca) bağımlısı endopeptidazlardır. (Tjäderhane ve ark 1998, Hashimoto ve ark 2003, Van Strijp ve ark 2003, Visse ve Nagase 2003, Armstrong ve ark 2004, Hebling ve ark 2005, Carrilho ve ark 2007).

### **1.3. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)**

MMP'ler; ESM ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim ailesidir. ESM'in tüm elemanlarını yıkma özelliğine sahiptirler. MMP'ler fetal gelişim, postnatal doku tamiri gibi fizyolojik durumlarda ve ESM'in yeniden yapılanmasında önemli rol üstlenirler (Öncel 2012). MMP'ler dokuların yeniden yapılanması, morfogenezis, yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik durumlarda önemli rol oynadıkları gibi tümör hücresi invazyonu, anjiyogenezis ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de yer almaktadırlar (Visse ve Nagase 2003). Oral kavitede MMP'ler; dental dokuların (Hall ve ark 1999, Caron ve ark 2001), periyodontal hastalıklar gibi patolojik süreçlerin (Ingman ve ark 1996), çürüklerin (Tjäderhane ve ark 1998) ve dental pulpa enflamasyonunun (De Souza ve ark 2000, Wahlgren ve ark 2003) gelişimi gibi çeşitli olaylarda da rol almaktadır. Makrofaj, nötrofil, plazma hücreleri,

keratinosit, fibroblast, kondrosit, osteoblast, osteoklast, epitelyum hücreleri ve endotel hücreleri gibi pek çok hücre tarafından proenzim (inaktif) olarak sentezlenip salgılanmaktadırlar. Proenzim aktivasyonu henüz net olarak karakterize edilmemiştir. Ancak aktif protein oluşumu için iki mekanizma ileri sürülmüştür; birincisi prodomain proteolizisi, ikincisi aktif bölgede Zn iyonu ile etkileşimde olan sistein tiol gruplarının oksidasyonudur. MMP enzimlerinin, ekstrasellüler alanda ya da hücre yüzeyinde; fiziksel, kimyasal veya enzimatik etkenlerle aktivasyonu gerçekleşmektedir. MMP enzimlerinin ve onların özel doku inhibitörleri olan TIMP' ların sentezlenip salgılanması, çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından düzenlenmektedir (Nagase 1997, Nagase ve Woessner 1999, Reel 2006, Rodriguez ve ark 2010, Biljana ve ark 2011).

MMP' lerin primer yapıları incelendiğinde bu proteinlerin birkaç farklı bölge içerdikleri görülmektedir (Görüroğlu Öztürk 2013);

**1. Sinyal Peptid (Predomain):** İlk bölge prodomain olarak adlandırılan, enzimi salgılanması için işaretleyen ve salgılanma sonrası kaybolan bölümdür. Latent enzimde bulunmayan sinyal peptid dizisidir.

**2. Propeptit (Prodomain):** 80-90 aminoasit içeren amino terminal propeptiddir. Propeptit bölgesi inaktif formdaki MMP' lerde bulunur ve bu enzimlere proMMP adı verilir. Bu bölgenin proteolitik olarak ortadan kaldırılmasıyla MMP' ler aktif hale geçerler. Prodomain yapısında bulunan sistein rezidüleri enzimin latent formunun korunmasında rol oynadığı bilinmektedir. Prodomainin uzaklaşması, inaktif proenzimin aktif forma dönüşmesini sağlar.

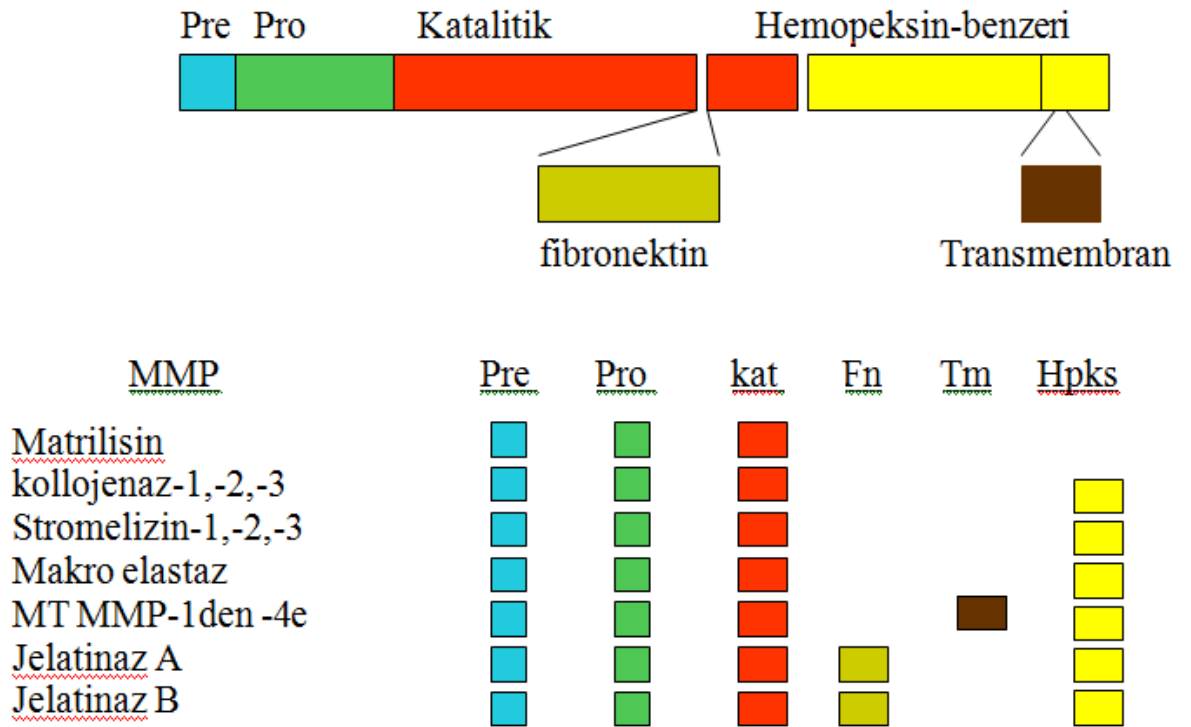
**3. Katalitik Bölge:** 180 amino asitten oluşmaktadır. Katalitik bölge, histidin rezidüleri içeren ve fonksiyonel stabilitenin korunması için gerekli olan çinko iyonunu içeren bölgedir.

**4. Kanca Bölgesi (Prolinden zengin bölge):** Katalitik bölge ve son bölge arasında yer alan bölgedir.

**5. Hemopeksin Benzeri Bölge:** Substrat özgünlüğünün devamını ve endojen inhibitörler ile bağlanmayı sağlar (Overall 2002). Son kısımda *hem* bağlayan molekülere dizin benzerliği nedeniyle hemopeksin olarak adlandırılır. Bu bölgeye N ve C terminal kısımları bağlayan disülfid bağı içerir ve katalitik bölgeye 5-10 aminoasitlik prolinden zengin bir bölge ile bağlanır. MMP-7, MMP-23 ve MMP-26 enzimleri dışında tüm proteinazlarda bulunur. Hemopeksin benzeri bölge; MMP' ların integrinler, hücre yüzey reseptörleri ve doku inhibitörleri gibi diğer

proteinlere bağlanmasını sağlamaktadır (Stamenkovic 2003). MMP'lerin aktivasyon ve inhibisyonunda fonksiyonel rolü vardır.

Bunlardan sinyal peptid, propeptid ve katalitik bölge bütün MMP'lerde bulunmaktadır. Bu genel özelliklerin dışında; jelatinaz A ve B, katalitik bölgelerinde, fibronektinin kollajen bağlayan bölgesi ile ilişkili olan ve diğer MMP'lerde bulunmayan, sisteinden zengin, jelatin bağlayan bir ektradomain içerirler (Görüroğlu Öztürk 2013). Eklem (hinge), hemopeksin ve transmembran domain gibi spesifik bölgeler bazı MMP'leri karakterize ederler (Visse ve Nagase 2003) (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. Matriks metalloproteinaz ailesinin gen bölgelerinin yapıları (Görüroğlu Öztürk 2013).

Uluslar arası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği spesifik enzim numaraları ve basit bir isimlendirmeye göre MMP'leri substrat spesifitesine göre 6 ana gruba ayırmıştır (Öncel 2012).

1. Kollajenazlar
2. Jelatinazlar
3. Stromelisinler
4. Matrisilinler

5. Membran tip olanlar
6. Sınıflandırılmamış MMP'ler.

Tablo 1. MMP' ların etki ettiği substratlar (ekstrasellüler matriks bileşenleri)

<b>MMP alt tip</b>	<b>Proteaz ismi</b>	<b>Aktive edilen proMMP</b>
MMP-1	Kollojenaz-1 (intersitisyel kollojenaz)	proMMP-1 proMMP-2
MMP-2	Jelatinaz A (72kDa jelatinaz)	proMMP-1 proMMP-2 proMMP-13
MMP-3	Stromelizin-1	proMMP-1 proMMP-3 proMMP-7 proMMP-8 proMMP-9 proMMP-13
MMP-7	Matrilizin	proMMP-1 proMMP-2 proMMP-7 proMMP-9
MMP-8	Kollojenaz-2 (nötrofil kollojenaz)	proMMP-8
MMP-9	Jelatinaz-B (92kDa jelatinaz)	proMMP-2 proMMP-9 proMMP-13

MMP-10	Stromelizin-2	proMMP-1 proMMP-8 proMMP-10
MMP-11	Stromelizin-3	
MMP-12	Metalloelastaz (makrofaj elastaz)	
MMP-13	Kollojenaz-3	proMMP-9 proMMP-13
MMP-14	MT-1MMP	proMMP-2 proMMP-8 proMMP-13 proMT1-MMP
MMP-15	MT-2MMP	proMMP-2 proMMP-13
MMP-16	MT-3MMP	proMMP-2 proMMP-13
MMP-17	MT-4MMP	proMMP-2
MMP-24	MT-6MMP (lökolizin)	proMMP-2 proMMP-9
MMP-26	Matrilizin-2 (endometaz)	proMMP-9

### 1. Kollajenazlar:

MMP-1 (Kollajenaz 1, intertisiyel kollajenaz, fibroblast kollajenaz)

MMP-8 (Kollajenaz 2, Nötrofil kollajenaz)

MMP-13 (Kollajenaz 3)

MMP-18 (Kollajenaz 4, xenopus)

İnsan fizyolojik sıcaklığında kollajenaz enzimlerinin tümü, intertisiyel kollajenler tip I, II ve III' ü denatüre ederek yani yapılarını değiştirerek parçalanmaktadır. Bu parçalanan kısımların yıkımı da jelatinazlar tarafından gerçekleştirilmektedir (Ravanti ve ark 1999, Creemers ve ark 2001, Visse ve Nagase 2003).

### 2. Jelatinazlar:

MMP-2 (Jelatinaz A)

MMP-9 (Jelatinaz B)

Bu enzimler, kollajenin denatüre edilmiş hali olan jelatinleri, kolaylıkla yıkmaktadır (Visse ve Nagase 2003). MMP-2 enziminin ekspresyonu; fibroblastlar, endotel hücreleri, kondrositler, osteoblastlar, monositler, T lenfositler ve keratinositler gibi hücreler tarafından gerçekleştirilmektedir. Birçok MMP' nin

aksine pro-MMP-2 (MMP-2 enziminin öncülü, inaktif formu) enziminin aktivasyonu hücre dışında değil membran tip I MMP (MTI-MMP) enzimi ile hücre yüzeyinde gerçekleşmektedir. MMP-2 enzimi, tip I, II, III, IV, V, VII, X kollajeni yıkmakla görevlidir. İn vitro koşullarda ekzojen MMP-9 un hücre büyümesini arttırdığı bilinmektedir. Anjiogenez de ise VEGF, FGF (fibroblast büyüme faktörü), TGF-beta gibi bazı proanjiogenik faktörler, MMP'lar tarafından aktive edilmektedirler. Ayrıca MMP-9 tümör makrofajlarında ve endotel hücrelerinde indüklenerek, neovaskülarizasyonu arttırdığı ve akciğer metastazlarına yol açtığı bildirilmiştir (Rundhaug 2005).

### **3. Stromelisinler:**

MMP-3 (stromelisin 1)

MMP-10 (stromelisin-2)

MMP-11 (stromelisin -3) enzimleri bu grupta yer almaktadır.

MMP-3 enziminin ekspresyonu; fibroblast, monosit, makrofaj, nötrofil, epitelyum hücreleri, endotel hücreleri, keratinositler, kondrositler gibi hücrelerde gerçekleşmektedir ve bu enzim tip II,III,IV,V,IX,X,XI kollajen ve jelatini yıkmakla görevlidir (Creemers ve ark 2001, Kerkelä ve Saarialho-Kere 2003, Jenkins ve ark 2004, Varun ve ark 2012).

### **4. Matrisilinler:**

MMP-7 (matrisilin 1, PUMP-1, en küçük uterin metalloproteinaz)

MMP-26 (matrisilin 2, endometaz) enzimleri bu grupta yer almaktadır.

Bu enzimler, menteşe bölgesi ve hemopeksin bölgesi bulunmayan en küçük MMP' lerdir (Kerkelä ve Saarialho-Kere 2003, Visse ve Nagase 2003, Varun ve ark 2012).

### **5. Membran tip matriks metalloproteinazlar:**

MMP-14 (MT1-MMP)

MMP-15 (MT2-MMP)

MMP-16 (MT3-MMP)

MMP-17 (MT4-MMP)

MMP-24 (MT5-MMP)

MMP-25 (MT6-MMP) enzimleri bu grupta yer almaktadır.

Bu gruptan MT1-MMP, TIMP-2 ile oluşturduğu yapı sayesinde hücre yüzeyinde pro-MMP-2' yi aktive edebilmektedir. Bu enzim tip I, II, III kollajen ve jelatini yıkmakla görevlidir (Kerkelä ve Saarialho-Kere 2003, Visse ve Nagase

2003). MT1-MMP enziminin ekspresyonu, kemik ve diş gibi mineralize dokularda yüksek seviyede gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalarda MT1-MMP enzim eksikliğinin, yetersiz kollajen remodelingine neden olarak; cücelik, osteopeni, kraniyofasiyal anomaliler, yumuşak doku fibrozisi,artrit, iskeletsel displazi ve hatalı anjiyogenez gibi bozuklukların oluşmasında rol oynadığı bildirilmiştir (Holmbeck ve ark 1999, Bartlett ve ark 2003).

#### **6. Diğer matriks metalloproteinazlar:**

MMP-12 (metalloelastaz, makrofaj elastaz)

MMP-19 (RASI, iltihaplı romatizmal eklemin zarında bulunan bir otoantijen)

MMP-20 (enamelisin)

MMP-21 (xenopus, XMMP)

MMP-23 (CA-MMP, sistein array)

MMP-27 (CMMP, gallus)

MMP-28 (episilin) enzimleri, yukarıda bahsedilen gruplardan herhangi birinde sınıflandırılmamıştır (Kerkelä ve Saarialho-Kere 2003, Visse ve Nagase 2003, Varun ve ark 2012).

MMP-12 enziminin ekspresyonu, esas olarak makrofajlarda gerçekleşmektedir ve bu enzimin makrofaj göçü için gerekli olduğu belirlenmiştir. MMP-12 tip IV kollajeni ve jelatini yıkıma uğratmaktadır. Bu enzimin, anjiyogenezi inhibe ederek tümör gelişimini önlediği bildirilmiştir (Kerkelä ve ark 2001, Kerkelä ve Saarialho-Kere 2003, Hou ve ark 2004).

### **1.3.1. Matriks Metalloproteinaz Enzimlerinin Düzenlenmesi**

MMP'lerin regülasyonu 3 seviyede gerçekleşmektedir (Uitto ve ark 2003):

1. Gen transkripsiyonu
2. Enzimin latent formunun aktivasyonu
3. Spesifik endojen inhibitörlerin inaktivasyonu

#### **1. Transkripsiyonel MMP Regülasyonu**

Büyüme faktörleri, sitokinler (IL-1, TNF), onkogenler, tümör promotörleri, hormonlar, kimyasal ajanlar veya fiziksel stres gibi durumlarda MMP genleri farklı hücrelerde selektif olarak eksprese olurlar. Yine hücre-matriks, hücre-hücre etkileşimleri de integrinlerin mediatörlüğü ile MMP ekspresyonunu indükleyebilmektedir (Nelson 2000, Görüroğlu Öztürk 2013). MMP genlerinin

growth faktör, sitokinler, tümör promotorleri, onkojen ürünleri gibi çeşitli ajanlarla indüklenebildiği bilinmektedir (Uitto ve ark 2003). MMP gen ekspresyonu tümör nekrozis faktör-a (TNF-a), interlökin-1 (IL-1) gibi inflamatuvar sitokinlerle, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi birçok büyüme faktörü ve hormonlar ile stimüle edilir. Transforme edici (dönüştürücü) büyüme faktörü-b (TGF-b), heparin, kortikosteroidler, retinoidler, prostaglandin E2 (PGE2) ve diğer eikozanoidler ise MMP gen transkripsiyonunu inhibe ederler (Reel 2006, Nagase 1997).

## **2. Proenzimin Aktif Hale Getirilmesiyle MMP Regülasyonu**

MMP'ler sentez edildikten sonra inaktif proenzim (zimojen) olarak salınırlar. Enzimin pro- bölgesindeki sisteinin sülfidril grubu ile aktif bölgedeki çinko arasındaki etkileşim latentliğin sürdürülmesinden sorumludur (Reel 2006). MMP aktivatörleri molekülde sülfidril ile çinko arasındaki etkileşimi bozarak ve proteolitik reaksiyona eşlik edecek olan çinkoyu serbestleştirir ve MMP latent molekülünde konformasyonel değişikliğe yol açarlar (Uitto ve ark 2003).

Latent formda bulunan MMP; organik civa bileşenleri, şelasyon yapıcı ajanlar ve proteazlar gibi bazı in vitro ajanlarla da aktive edilebilir (Uitto ve ark 2003). MMP'lerin temel fizyolojik aktivatörü plazmindir. Hücreden salınan MMP'lerin çoğu inaktif moleküller olarak salınmaktadırlar. Propeptid içeren inaktif MMP'ler, otokataliz, doku veya plazma proteinazları, oportunistik bakterial proteinazlar, ürokinaz plazminojen aktivatör (uPA) /plazmin sistemi ile veya diğer MMP'ler ile aktifleşirler.

Örneğin bazı hücrelerin yüzeylerinde pro-MMP-2'nin aktifleşmesi MT-MMP' nin medyatörlüğünde gerçekleşmektedir. MMP'lerin büyük kısmı ekstrasellüler olarak aktive edilmektedir (Görüroğlu Öztürk 2013).

Çeşitli hücrelerde (endotel hücresi, monosit-makrofaj, düz kas hücresi) eksprese edilen uPA' nın aktif formunun plazminojeni plazmine dönüştürdüğü ve oluşan plazminin pro-MMP'leri aktive ettiği kabul edilmektedir. uPA aracılı aktivasyon kaskadında bir MMP'nin aktivasyonu, diğer bir MMP'nin aktivasyonuna yol açar, aktiflenen enzim bir diğer MMP'yi aktive edecek şekilde pozitif bir döngü oluşturur. Bu şekilde plazmin pro formdaki MMP-1, MMP-3 ve MMP-9'u aktif formuna dönüştürür. Daha sonra MMP-3 pro-MMP-1'i MMP-1'e dönüştürür, MMP-



1 de pro-MMP-9'u aktif formuna dönüştürebilir. MT-MMP'ler de diğer MMP'lerin özellikle MMP-2'nin aktivatörüdürler. Oluşturdukları proteolitik aktivasyon plazminojen/plazmin aktivatör sistemine benzer şekilde hücre yüzeyinde gerçekleşir.

### **3. Doku İnhibitörleri (TIMP) ile MMP Regülasyonu**

MMP' ler, hücre içinde sentezlenmekte ve ekstrasellüler alana salgılanmaktadır. Hücre dışına çıktıklarında ESM' yi geçer ve doğal inhibitörleri olan metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) ile karşılaşılır (Nelson 2000). TIMP' ler MMP' lerin dokulardaki bölgesel aktivitelerinin kontrolüne katılarak bağ doku metabolizmasının düzenlenmesinde temel rol alan protein yapılarıdır. MMP aktivitesinin kontrolünde spesifik doku inhibitörleri olan TIMP'ler anahtar rol oynarlar. Bundan başka a2-makroglobulin, heparin, tetrasiklinler ve sentetik inhibitörler de aktif MMP inhibitörleri arasında yer alırlar.

TIMP' ler haricindeki MMP inhibitörleri genellikle çürük gelişimini önleyici amaçla araştırılmıştır. Bu inhibitörler şu şekildedir:

#### **1. Sentetik MMP inhibitörleri:**

Birçok birinci kuşak MMP inhibitörü; kollajenaz enziminin bölünme bölgesi çevresine çinko bağlayarak enzimatik aktiviteyi baskılayan, kollajeni taklit eden bir aminoasit içerecek şekilde tasarlanmıştır. Süksinat gibi başka çinko- şelat grupları da geliştirilmiştir (Rasmussen ve Mc Cann 1997). Bu tür ilaçlar esas olarak kanser tedavisi için üretilmişlerdir.

#### **2. Siklinler ve bifosfanatlar:**

Antimikrobiyal olmayan kimyasal olarak modifiye edilmiş tetrasiklin (CMT)' ler, özellikle ağız içi uygulama sonrasında güvenli ve etkili bulunan birkaç MMP inhibitörü arasındadır. İnhibizyonu  $Ca^{+2}$  şelasyonu yoluyla baskırlar (Golub ve ark 1998, Ramamurthy ve ark 2002, Kivela- Rajamaki ve ark 2003).

#### **3. Doğal terapiler:**

Avakado ve soya fasulayesinin MMP inhibisyonu yaptıkları in vitro olarak gösterilmiştir (Huet ve ark 2004). Yeşil çay, özellikle MT-1 MMP aktivitesini azaltarak proMMP 2 değerinde de düşmeye neden olan potansiyele sahiptir (Demeule ve ark 2000, Garbisa ve ark 2001, Sartor ve ark 2002).

#### **4. Klorheksidin:**

Klorheksidin periyodontal fibroblastlardan salgılanan MMP' ler üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, aynı etkinin çürük süreci ve hibrit tabakanın bozulmasında etkili olan dentin kaynaklı MMP üzerinde de göstereceği fikri üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Erkli ve Ersöz 2011).

MMP' ler, ESM' nin yıkımını gerçekleştirerek, kemik ve yumuşak doku remodelingi sürecinde rol almaktadır. Günümüze kadar çeşitli MMP' lerin, gelişmekte olan diş dokularındaki ekspresyon seviyelerinin diş sürmesine olan etkileri araştırılmıştır. Kim (2007) ve Kim ve ark (2008)' nin yaptıkları çalışmalarda gömülü daimi insan dişindeki MMP' lerin normal dışı ekspresyonunun sürmeyi engelleyebileceği bildirilmektedir. Kollajen ve bağ doku remodelinginde önemli rol oynayan MMP' lerin sürme sırasındaki azalmış ekspresyon seviyeleri sonucu dişlerin süremeyeceği düşünülmektedir.

#### **1.3.2. Matriks Metalloproteinazların Diş Gelişimi ve Sürmesindeki Rolü**

Dişin gelişim sürecinde, organik matriksin salgılanıp remodele olması ve dentin (dentinogenez) ve mineyi (amelogenez) oluşturmak için mineralize hale gelmesi gerekmektedir. Gelişmekte olan dişin mine ve dentininde çeşitli yöntemlerle MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP- 9, MMP-20 ve MT1-MMP enzimlerinin tespit edildiği bilinmektedir.

Mine matriksinin en büyük yapısal bileşeni amelogenindir. MMP-20 (enamelinin) yapısal ve enzimatik özellikleri sayesinde amelogeninin bozunmasını sağlar ve mine gelişiminde önemli rol oynar. MMP-20 gen yıkımlı farelerin minelerinin mineral içeriğinin; sağlıklı farelerdekinin yaklaşık olarak yarısı, mine sertliğinin ise 2\3 oranında olduğu bulunmuştur (Bartlett ve ark. 2004). Bununla birlikte MMP-2 enziminin, dentin oluşumunda çok etkin bir role sahip olduğu düşünülmektedir (Caterina ve ark. 2002, Caron ve ark 2001, Bartlett ve ark 2003, Bourd-Boittin ve ark 2005). İnsan dentininde MMP-2 varlığı ilk kez Martin-De Las Heras ve ark (2000) tarafından tanımlanmıştır. MMP-2 ve onun aktivatörü olan membrantip-1 MMP' in (MT-1MMP); ameloblastlar, odontoblastlar ve pulpa tarafından üretildiği rapor edilmiştir (Caron ve ark 2001).

MT1-MMP ekspresyonunun, mine organının ameloblastları ve dental papillanın odontoblastları tarafından gerçekleştirildiği belirtilmektedir. Aynı

zamanda bu enzimin ekspresyonu kemik ve kıkırdak oluşumuna katılan hücrelerce de (osteoklast, osteoblastlar ve kondrositler) gerçekleştirilmektedir. Holmbeck ve ark (1999) MT1-MMP geni susturulmuş farelerde kök gelişimini ve diş sürmesini değerlendirdikleri çalışmalarında MT1-MMP enziminin etkisini kollajen remodelingi ve/veya kemik yapımı şeklinde gösterdiğini, deney hayvanlarında kollajen metabolizmasındaki bozukluk sonucunda gerekli remodeling veya kemik yapımının gerçekleşmediğini ve bunun sonucunda diş sürmesinin de olmadığını bildirmiştir.

Çalışmalarda MMP'lerin dentin matriksi ya da tükürük içindeki varlığı incelenmiş ve dentin çürüğündeki matriks bozunmasından bu enzimlerin sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Tjäderhane 1998, Martin de Las Heras 2000, Sulkala 2007). Çürük dentindeki kollejenolitik aktivite sağlam dentine göre yüksektir. Bunun nedeni olarak kollajenaz aktivatörlerinin varlığı ya da kollajenaz inhibitor komplekslerinin salgılanmasında kısmi azalma olması gösterilmektedir (Dayan 1983). Kollajenaz (MMP-8) ve jelatinazın (MMP- 2 ve -9) öncül ve aktif formlarının dentin çürüğü lezyonlarında görüldüğü ve aktivasyonlarının doğal olarak ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Tjäderhane 1998).

Diş sürmesi sırasında periyodontal dokularda ESM remodelingi gerçekleşmektedir. Bu süreci ESM moleküllerinin üretimi, MMP' ler tarafından ESM' nin yıkımı ve TIMP aracılığı ile MMP inhibisyonu arasındaki denge kontrol etmektedir. Kemikte osteoklastların yanı sıra, osteoblastlar ve osteositlerin de MMP' ler gibi ESM' yi yıkıma uğratan enzimler ürettiği belirlenmiştir (Sahlberg ve ark 1999, D'Alonzo ve ark 2002). Maruya ve ark (2003) in situ hibridizasyon tekniği kullanılarak yaptıkları çalışmada sıçanların maksiler 1. molar dişinin sürmesi sırasında, osteoblastlar, osteositler, sementoblastlar, sementositler ve periyodontal ligament (PDL) fibroblastlarında, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, MMP-2, MMP-8, tip I kollajen ekspresyonlarını araştırmıştır. Alveolar kemik, sement ve PDL' de saptanan MMP-2 ve MMP-8 ile ilişkili olarak bulunan tip I kollajen ve TIMP' lerin yüksek ekspresyon seviyelerinin sürme sürecindeki aktif ESM remodelingini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, literatür bilgileri ışığında belirlenen MMP enzimlerinin (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-13) ve bunlarla ilişkili olarak TIMP-1, TIMP-2 ve TIMP- 4'ün gömülü kalmış ve sürmüş yirmi yaş dişlerinin dentin

dokusunda BSA analizi kullanılarak karşılaştırılması ve bu enzimlerin dişlerin gömülü kalması üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



## **2. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **2.1. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması**

Araştırmaya Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'na başvuran ve bilgilendirilmiş onam formunu onaylayan hastalar dâhil edildi. Çalışma grubunda; 20-35 yaş aralığındaki hastalardan profilaktik amaçla çekilmiş, asemptomatik, kemik veya mukoza retansiyonu olan, Pell ve Gregory sınıflamasına göre sınıf I olan, 50 adet gömülü yirmi yaş dişi kullanılmıştır. Kontrol grubunda ise; 20-35 yaş aralığındaki hastalardan, dentisyonda yerini almış, çürüksüz ve çeşitli nedenlerle (karşıt arka uzama, periodontal hastalık gibi) çekimi gerçekleştirilmiş 50 adet yirmi yaş dişi kullanılmıştır. Araştırma Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulu'nun 2014/02 Karar sayısı ile yürütüldü. Çalışma ve kontrol gruplarına dâhil olan bireylerin seçiminde dikkat edilen bazı kriterler arasında; sistemik bir hastalığın bulunmaması, son 6 ay içinde herhangi bir ilaç tedavisi almamış olması, sigara kullanmaması, konjenital diş eksikliğinin bulunmaması, hamile veya emziren olmaması kriterleri yer aldı.

### **2.2. Protein Array Analizi İçin Dişlerin Hazırlanması**

Çalışmaya dâhil olan ve onam formunu alınan hastalardan toplamda 100 adet, çürüksüz, restorasyon içermeyen, yapısal bütünlüğü bozulmamış, gömülü (kemik veya mukoza retansiyonlu) veya sürmüş, yeni çekilen yirmi yaş dişi toplandı. Hastaların yaş aralığı 20-35 olarak belirlendi. Çekilen dişin çalışmada kullanılmaya hazır olması için üzerindeki artıklar distile su ve bistüri yardımıyla temizlendikten sonra dişler derin dondurucuya (-20 °C) kaldırıldı. Diş örneklerinin kökleri su soğutması altında elmas frez yardımıyla uzaklaştırıldı (Şekil 2.1). Pulpanın uzaklaştırılması için elmas freze ek olarak uygun el eğeleri kullanıldı.



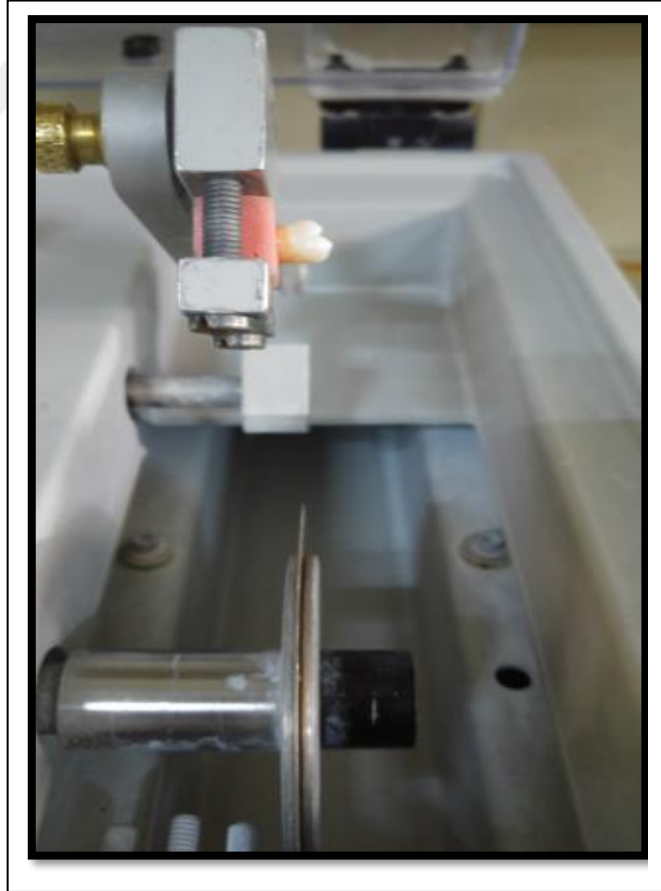
**Şekil 2.1.** Dişlerin kökleri su soğutması altında elmas frez yardımıyla uzaklaştırıldı.

Elde edilen kuron örnekleri 15X 15X 10 mm ebatlarında silikon kalıp (Zetaplus C-Slicone, Zehermack, Almanya) kullanılarak oluşturulmuş otopolimerizan akrilik bloğa (Meliodent, Bayer Ltd., Newbury, İngiltere), servikal hattın 2 mm altında olacak şekilde gömüldü ve sonrasında elmas frez ve tur yardımıyla mine elimine edildi (Şekil 2.2).



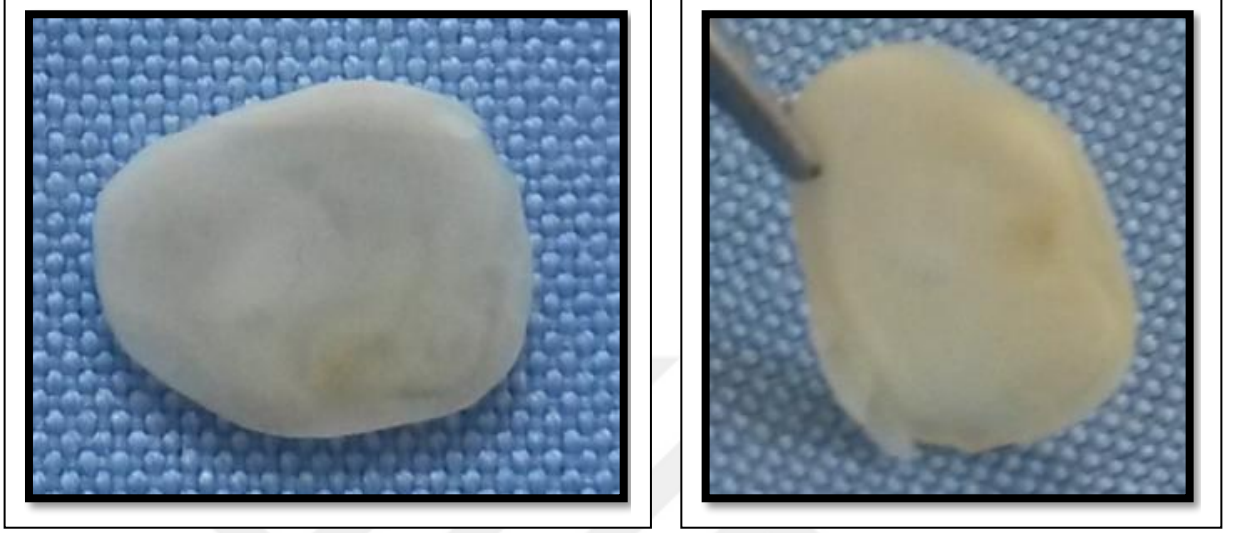
**Şekil 2.2.** Dişler akrilik bloklara gömülerek preparasyon için hazır hale getirildi.

Dentin tozu elde edilebilmek için dişler su soğutmalı düşük hızlı mikro kesit alma cihazına (IsoMet, 1000 Precision Saw, Buehler Lake Bluff, IL, ABD) yerleştirildi Kesit alma cihazına takılan 0,3 mm kalınlığında disk şeklindeki elmas separe (Diamond Wafering Blade, 10 cm X 0,3 mm, Buehler, ABD) ile dişlerin uzun aksına dik, yaklaşık 0,1 mm kalınlıkta, okluzal yüzeyden başlayan seri kesitler alındı (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Isomet ve elmas separe yardımıyla dentin kesitleri elde edildi.

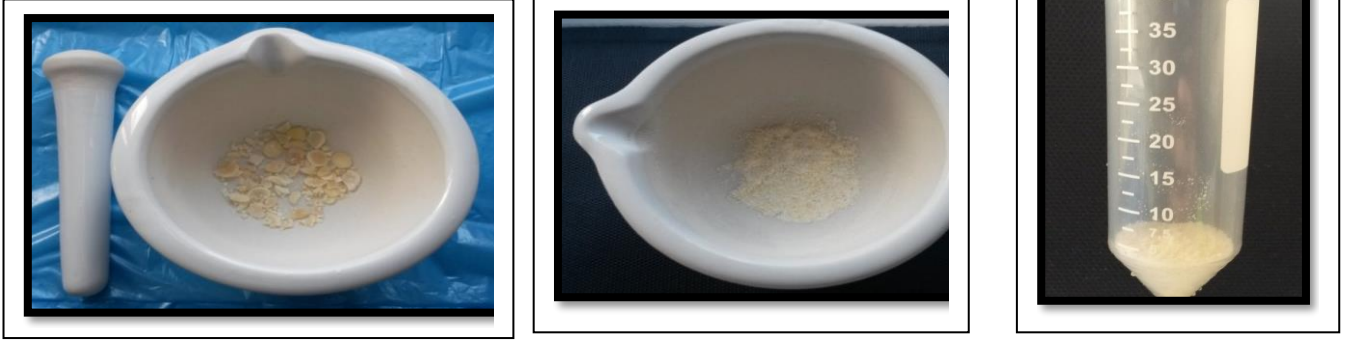
Kesitlerin yüzeyinde mine kalıp kalmadığı ışık mikroskobunda (Olympus, SZ-PT, Japonya) X 20 büyütmede kontrol edildi (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Dentin kesit örnekleri

Bu şekilde minenin tamamen kaldırılmasıyla elde edilen yüzeyel dentin çalışmada kullanıldı. Alınan kesitler  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de muhafaza edildi. Bir sonraki gün, elde edilen dentin kesitleri sıvı azot yardımıyla mermer bir havanda dövülerek dentin tozu haline getirildi (Şekil 2. 5).





**Şekil 2.5.** Elde edilen dentin kesitleri sıvı azot yardımıyla mermer bir havanda dövülerek dentin tozu haline getirildi.

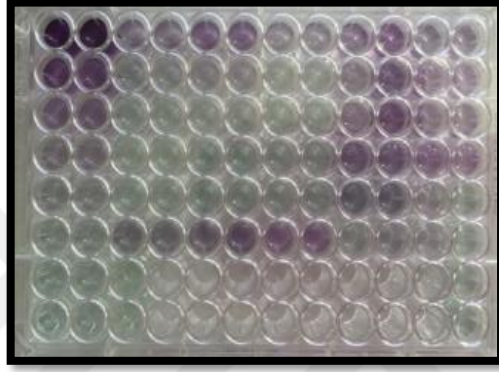
Kuronal dentin örneklerinden seçili proteinlerin izolasyonu ve izole edilen protein miktarının tayinini sağlamak amacıyla Bisinkoninik Asit Analizi (BSA, bicinchoninic asid assay, BCA) Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi. Bu analiz için her iki grup için hazırlanan dentin tozundan eşit miktarda alındı ve demineralizasyon için (+4°C' de 24 saat karıştırılarak) 0,26 M, pH= 2.3 sitrik asitle muamele edildi.

### **2.2.1. Kuronal dentin örneklerinden proteinlerin izolasyonu**

Kuronal dentin örnekleri, bir havan içerisinde üzerlerine sıvı azot dökülerek dondurulup, dövülerek toz haline getirilen dentin tozu örnekleri 15 ml' lik 2 ayrı tüpe, 1' er gr olacak şekilde konuldu. Protein izolasyonu için gerekli olan ekstraksiyon tampon stokları şu şekilde hazırlandı: Hazırlanan stoklar verilen molarite (M)'lerde kombine edildi: 50 mM Tris HCL, 5Mm CaCl<sub>2</sub>, 100 mM NaCl, %0,1 Triton X-100, %0,1 NONIDET P-40, 0,1 mM ZnCl<sub>2</sub> ve %0,02 NaN<sub>3</sub>. Bunlara son olarak EDTA' sız proteaz inhibitör kokteyli eklendi (50 ml için 1 tablet, Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA). Protein ekstraksiyonu için örneklere 40 W' lık ultrasonik titreşimle muamele edildi (Sonicator Ultrasonic Liquid Processor Model W-385, Heat Systems-Ultrasonic Inc., Farmingdale, NY, USA). Numune tüpleri 18,000 rpm' de +4°C' de 30 dakika boyunca santrifüj edildi ve üstte kalan sıvı toplandı. Proteinlerin miktar tayini için BSA yönteminden yararlanıldı.

### 2.2.2 Protein Miktar Tayini

Dentin tozundan izole edilen toplam protein miktarı, BSA (BCA, Pierce, Rockford, IL, USA) ve Elisa reader cihazı (Molecular Devices, SpectraMax, ABD) kullanılarak mikrolitre ( $\mu\text{l}$ )' deki mikrogram ( $\mu\text{g}$ ) protein olarak belirlendi. Bunun için, örnekler elisa plakası kuyucuklarına konuldu. Örneklerin üzerine protein tahlil solüsyonu (protein assay) ilave edildikten sonra 30 dakika beklendi. Plaka, elisa okuyucusuna yerleştirildi ve protein miktarları 562 nanometrede (nm) belirlendi (Şekil 2.6).



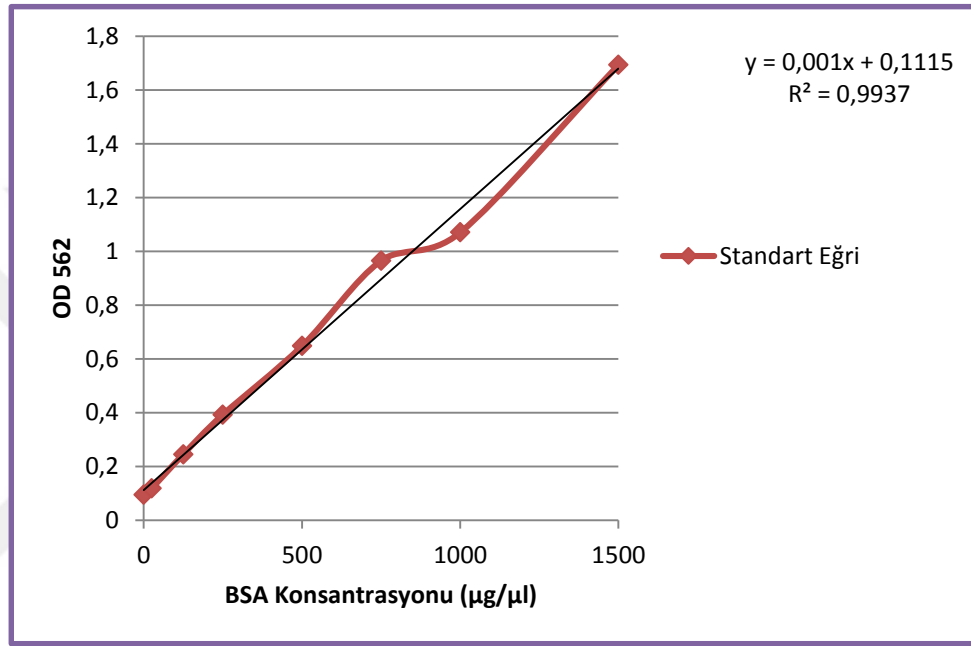
Şekil 2.6. Bu şekilde BSA protein tahlil kitindeki renk değişimi görülmektedir.

BSA protein tahlil kiti total proteinin kolorimetrik olarak tespit edilmesi ve miktarının belirlenmesi için geliştirilmiş, bisinkoninik asite dayanan deterjan-uyumlu formulasyona sahip bir belirleme tekniğidir. Bu teknik, alkalin ortamda protein yardımıyla  $\text{Cu}^{+2}$ ' nin  $\text{Cu}^{+1}$ ' e indirgenmesi ve kendine has bisinkoninik asit ayırıcı kullanılarak yüksek kolorimetrik sensitivite ve selektiviteye sahip  $\text{Cu}^{+1}$  kationunun belirlenmesi yöntemlerinin kombinasyonunu içerir. İki molekül BCA ve bir bakır iyonunun şelasyonu sonucu mor renkli reaksiyon ürünü oluşur. Bu suda çözünebilir kompleks 562 nm' de güçlü bir soğurma gösterir. Bu değer geniş bir çalışma aralığında (20-2000  $\mu\text{g/mL}$ ) artan protein konsantrasyonuyla neredeyse doğrusal bir ilişkidir.

BSA yöntemi gerçek bir son nokta yöntemi değildir; finalde oluşan renk gelişmeye devam eder. Buna rağmen tekrarlayan inkübasyonlar sonucu, renk gelişiminin devam etme oranı büyük sayılardaki örneklerin bir arada değerlendirilmesine olanak sağlayacak kadar yavaş gerçekleşir. Araştırmalarda renk formasyonunun gelişiminde BSA' ya ek olarak proteinin makromoleküler yapısı,

bağlanan peptit sayısı ve dört partiküler aminoasit varlığı (sistein, sistin, triptofan ve trozin) sorumlu tutulmuştur. Di-, tri- ve tetrapeptidler ile yapılan çalışmalarda renk formasyonunun gelişiminde sadece renk üreten fonksiyonel grupların rol almadığı vurgulanmıştır. Bu yüzden, protein konsantrasyonu belirlenirken ve rapor edilirken genellikle yaygın bir protein (sığır serum albumin gibi) standart olarak referans edilir.

**Grafik 2.1.** BSA konsantrasyonu değişim grafiği



### 2.3. Protein Array Uygulaması

Geleneksel Western blot analizi uygulamasında 10 farklı basamak ile protein izolasyonu yapılabilmektedir. Bu teknikte çoklu protein ekspresyonu analizi için 2-D SDS-PAGE ve kütle spektrometrisi kullanılmaktadır. Bu yavaş, pahalı, yoğun iş gücü gerektiren ve özel ekipman gerektiren bir yöntemdir. Bu nedenle, çoklu protein ekspresyon seviyesini araştıran çalışmalar karmaşık, pahalı ve zaman alıcı bir hal almıştır. Bunlara ek olarak, bu geleneksel metot pek çok sitokinlerin belirlenmesinde yeterli sensitiviteye sahip değildir. Sitokinler kanser, obezite, enflamasyon ve kardiyak hastalıklar gibi pek çok hastalığın gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle çalışmalarda sitokinlerin belirlenmesi çalışmanın güçlü bir kaynağı olur. Hücresel süreçlerin sitokinler tarafından düzenlenmesi pek çok proteinin yer aldığı kompleks ve dinamik bir süreçtir. Bu nedenle, fizyolojik ve patolojik süreçlerin

anlaşılması için bir sitokin yerine çok sayıda sitokin rolünün anlaşılması gerekmektedir.

Geleneksel Western blot analizinin dezavantajlarından kaçınmak ve araştırmalarda çok sayıda proteinin izolasyonunu beraber yapabilmek amacıyla 10 çeşit insan MMP' sini bir arada değerlendirebilen kitler geliştirilmiştir. Bu çalışmada da, maliyet ve zaman kazancı ve aynı örnekte birden çok MMP tespit edilmesine olanak sağlaması gibi avantajları nedeniyle 'ab134004-Human MMP Antibody Array-Membrane' kiti kullanılarak MMP ve TIMP' lerin gömülü ve sürmüş dişlerdeki miktarı belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır.



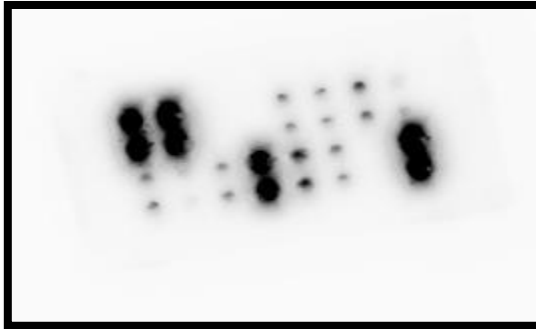
### 3. BULGULAR

#### 3.1. Araştırma Sonuçları

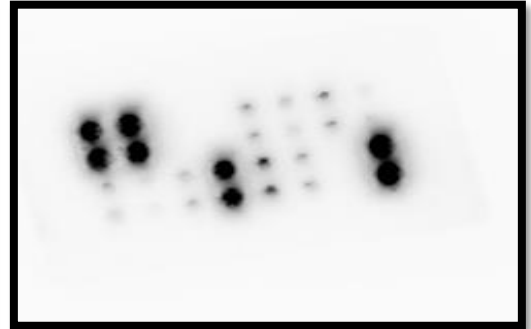
Araştırmada Grup 1 (n=50, gömülü) ve Grup 2 (n=50, sürmüş) için hazırlanan dişler 'ab134004-Human MMP Antibody Array-Membrane' kiti kullanılarak incelenmiştir. Bu sayede geleneksel Western blot analizinin dezavantajlarından kaçınılmış, maliyeti azaltılmış ve zaman kazancı sağlanmıştır. Ek olarak bu kit aynı örnekte birden çok MMP tespit edilmesine olanak sağlamaktadır. Çalışmamızda kullanılan kit ile elde edilecek sonucun doğru değerlendirilebilmesi için membran üzerinde hem MMP'lerin lokalizasyonu hem de pozitif ve negatif kontrollerin lokalizasyonu firma tarafından belirlenmiştir.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Pos	Pos	Neg	Neg	MMP-1	MMP-2	MMP-3	MMP-8
2	Pos	Pos	Neg	Neg	MMP-1	MMP-2	MMP-3	MMP-8
3	MMP-9	MMP-10	MMP-13	TIMP-1	TIMP-2	TIMP-4	Neg	Pos
4	MMP-9	MMP-10	MMP-13	TIMP-1	TIMP-2	TIMP-4	Neg	Pos

Deney sonunda her iki gruba ait membran üzerindeki proteinlerin görüntüsü IMAGE J bilgisayar programı kullanılarak ve her görüntü üzerinden ölçüm üçer kez tekrarlanarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.1 ve 3.2).



Şekil 3.1. Gömülü diş grubundan elde edilen BSA analizinin görüntüleri



Şekil 3.2. Sürmüş diş grubundan elde edilen BSA analizinin görüntüleri

**Tablo 3.2.** Analiz Sonuçları

GÖMÜLÜ DİŞ ÖLÇÜMLER		MMP ORT. DEĞER	SÜRMÜŞ DİŞ ÖLÇÜMLER		MMP ORT. DEĞER
MMP-1	18,53	19,56	MMP-1	31,92	33,86
	20,59			35,80	
MMP-2	17,61	17,71	MMP-2	24,83	24,27
	17,82			23,70	
MMP-3	22,42	21,78	MMP-3	35,27	34,93
	21,15			34,60	
MMP-9	33,70	26,02	MMP-9	43,37	31,88
	18,35			20,39	
MMP-13	21,44	21,53	MMP-13	30,14	28,94
	21,62			27,75	
POZİTİF KONT 1	132,57		POZİTİF KONT 1	175,19	
	155,01			162,02	
POZİTİF KONT 2	145,65		POZİTİF KONTROL 2	187,86	
	154,91			182,02	
POZİTİF KONT 3	124,98		POZİTİF KONT 3	183,75	
	138,81			188,45	
TIMP-1	122,15	125,59	TIMP-1	162,02	156,87
	129,03			151,72	
TIMP-2	52,61	45,18	TIMP-2	71,17	67,23
	37,75			63,30	
TIMP-4	21,31	19,46	TIMP-4	33,56	31,21
	17,61			28,86	

### 3.2. İstatistiksel Analiz

Grup 1 ve Grup 2' nin normal dağılıp dağılmadığına Kolmogorov- Simirnov testi ile bakılmış ve verilerin normal dağıldığı görülmüştür. Bu yüzden 2 bağımsız grubun (sürmüş ve gömülü), MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-2 ve TIMP-4 bakımından karşılaştırılması için 2 bağımsız grup için t testi kullanılmış ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 1). İstatistiksel analiz için SPSS yazılımının 15. 0 versiyonu kullanıldı.

**Tablo 3.3.** İstatistiksel Veriler

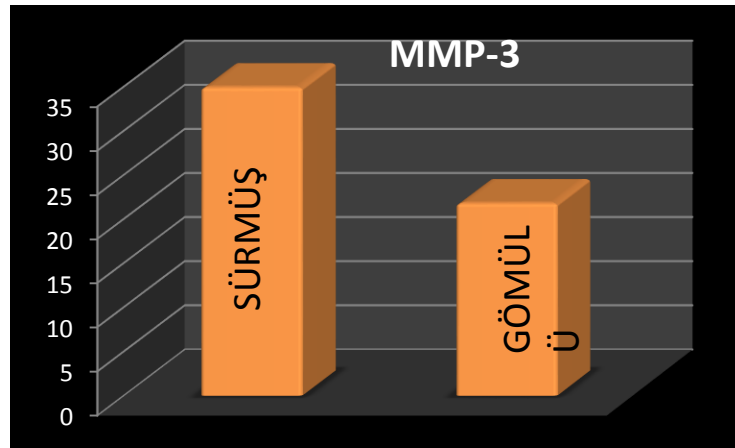
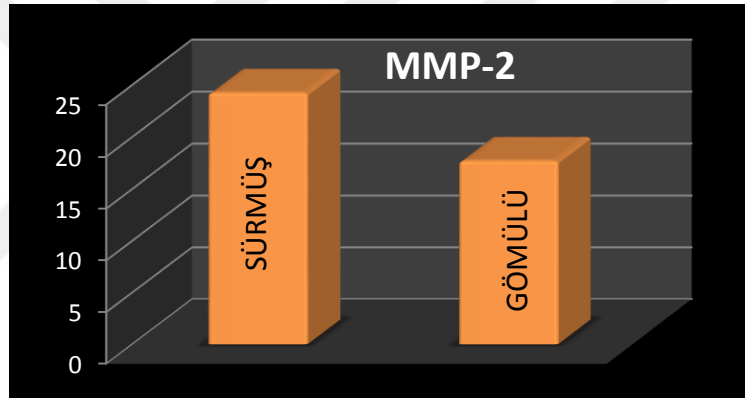
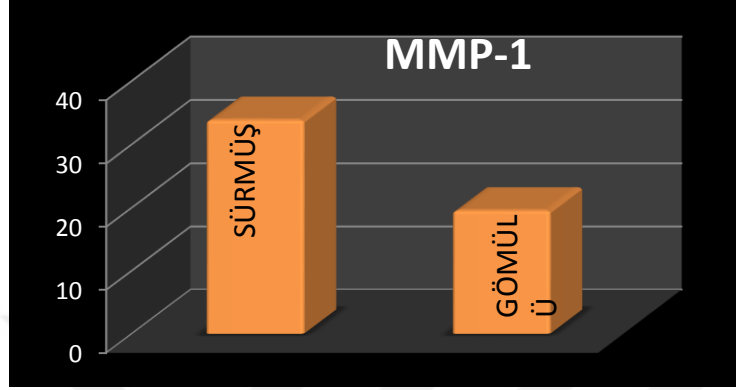
Grup İstatistikleri					
	Tür	N	Ortalama	Standart Sapmaları	p-değeri
<b>MMP-1</b>	<b>SURMUS</b>	<b>2</b>	<b>33,8600</b>	<b>2,74357</b>	<b>,043**</b>
	<b>GOMULU</b>	<b>2</b>	<b>19,5600</b>	<b>1,45664</b>	
<b>MMP-2</b>	<b>SURMUS</b>	<b>2</b>	<b>24,2650</b>	<b>,79903</b>	<b>,048**</b>
	<b>GOMULU</b>	<b>2</b>	<b>17,7150</b>	<b>,14849</b>	
<b>MMP-3</b>	<b>SURMUS</b>	<b>2</b>	<b>34,9350</b>	<b>,47376</b>	<b>,009*</b>
	<b>GOMULU</b>	<b>2</b>	<b>21,7850</b>	<b>,89803</b>	
MMP-9	SURMUS	2	31,8800	16,24931	,718
	GOMULU	2	26,0250	10,85409	
MMP-13	SURMUS	2	28,9450	1,68999	,100
	GOMULU	2	21,5300	,12728	
<b>TIMP-1</b>	<b>SURMUS</b>	<b>2</b>	<b>156,8700</b>	<b>7,28320</b>	<b>,049**</b>
	<b>GOMULU</b>	<b>2</b>	<b>125,5900</b>	<b>4,86489</b>	
TIMP-2	SURMUS	2	67,2350	5,56493	,157
	GOMULU	2	45,1800	10,50761	
<b>TIMP-4</b>	<b>SURMUS</b>	<b>2</b>	<b>31,2100</b>	<b>3,32340</b>	<b>,064***</b>
	<b>GOMULU</b>	<b>2</b>	<b>19,4600</b>	<b>2,61630</b>	

Testlerin p değerleri sırasıyla  $\alpha=0.01$ ,  $\alpha= 0.05$  ve  $\alpha= 0.10$  için değerlendirilmiştir.  $\alpha=0.01$  için anlamlı çıkanlar \*,  $\alpha=0.05$  için anlamlı çıkanlar \*\* ve  $\alpha=0.10$  için anlamlı çıkanlar \*\*\* ile gösterilmiştir. İstatistiksel analize göre Grup 1 ve Grup 2 arasında MMP-1, MMP-2 ve TIMP-1 değerleri arasında ( $\alpha=0.05$  için) anlamlı fark bulunmuştur.

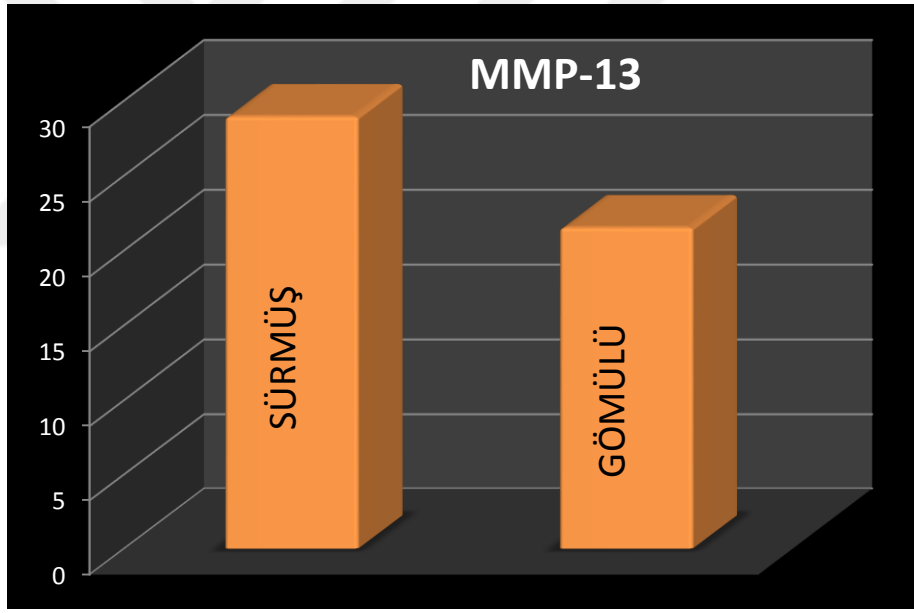
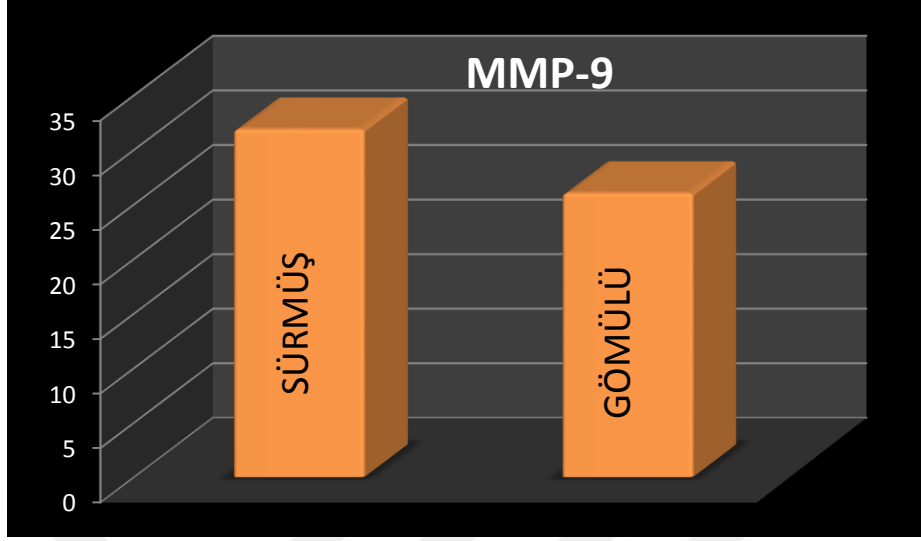
MMP-1 miktarı Grup 2’de Grup 1’e göre istatistiksel olarak anlamlı ( $\alpha<0.05$ ) derecede yüksek bulunmuştur. Aynı şekilde MMP-2 ve TIMP-2 için Grup 2’de Grup 1’e göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $\alpha<0.05$ ) görülmüştür. MMP-3 ise  $\alpha<0.01$  için Grup 2’de Grup 1’e göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Veriler  $\alpha< 0.1$  için değerlendirildiğinde TIMP-4’ün Grup 2’de Grup 1’e göre anlamlı

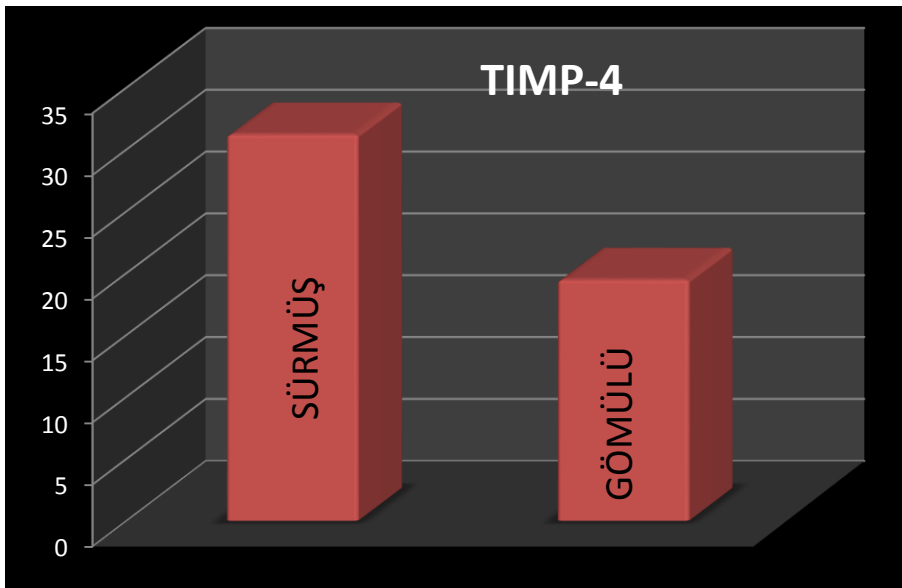
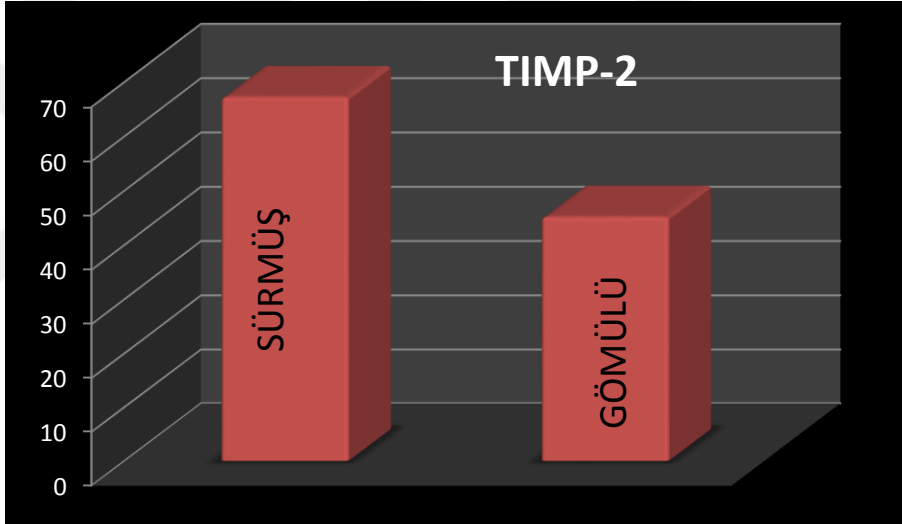
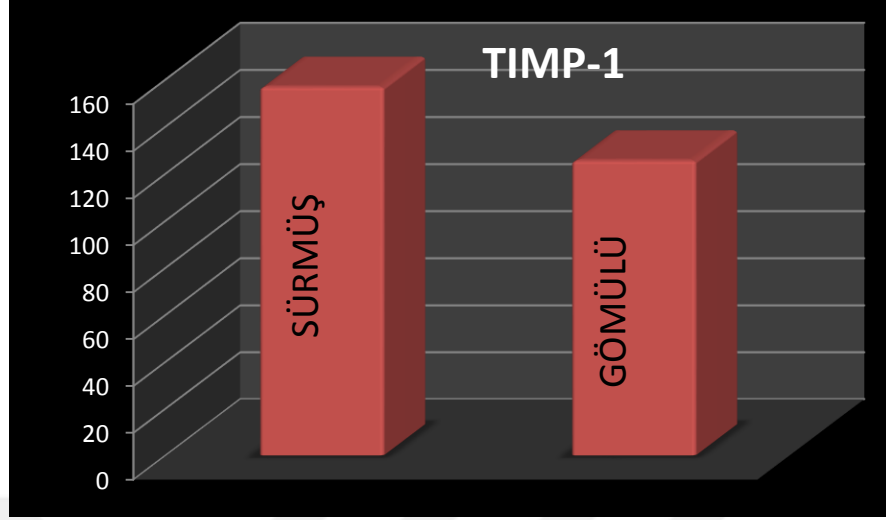
farklılık gösterdiği belirlenmiştir. MMP-9, MMP-13 ve TIMP-2 için Grup 1 ve Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

**Grafik 3.1.** İstatistiksel verilerin grafik görünümüleri









#### 4. TARTIŞMA

MMP' ler birçok fizyolojik (kemik remodelasyonu, yara iyileşmesi, anjiyogenezis, apoptozis) ve patolojik (kardiyovasküler hastalıklar, artirit, kanser, periodontal hastalıklar) süreçlerde rol almaktadır (Nagase 1999). MMP' lerin düzenlenmesi; MMP genlerinin transkripsiyonel düzenlenmesi, prekürsör aktivasyonu, substrat spesifitesinde değişiklikler ve MMP inhibitörleri ile sağlanmaktadır (Nagase 1999).

Fizyolojik koşullarda MMP' ler ve onların önemli endojen inhibitörleri olan matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) arasında bir denge vardır. TIMP'ler ekstraselüler matrikste MMP'lerle 1: 1 oranında geri dönüşümsüz olarak bağlanmış kompleksler şeklinde bulunurlar (Sapna 2014). MMP ve TIMP arasındaki denge ESM' nin yıkım ve yapımını dengede tutarak (Birkedal-Hansen ve ark 1993, Nagase ve Woessner 1999, Maruya ve ark 2003) normal süreçte diş sürmesini, kökte uzamayı, PDL remodelingini, alveoler kemik rezorpsiyon ve apozisyonunu sağlamaktadır (Marks 1996). Bu dengenin MMP lehine bozulması ESM'nin yıkımı ve doku kaybıyla sonuçlanmaktadır (Kubota 2008).

Diş gelişimi ve sürmesinde MMP etkinliği ile ilgili literatürde pek çok çalışma mevcuttur (Beertsen 2002, Bartlett 2004, Caterina 2002, Erikli 2011, Kim 2007, Kim 2008, Martin de Las Heras 2000, Maruya ve ark. 2003). Dentinde bulunan MMP'ler yaşam boyu devam eden dentin olgunlaşması (Martin-De Las Heras 2000), intratubuler ve intertubuler dentin formasyonu ve kalsifikasyonu (Hall R 1999, Tjäderhane L 2001, Goldberg M 2003, Tjäderhane L 1998a) dentin çürüklerinin ilerlemesi gibi süreçlerde rol oynamaktadır (Tjäderhane 1998b, Sulkala 2001). Dentinde bulunan MMP' lerin diş gelişimi ve sürmesindeki rolü daha önce pek çok çalışmanın konusu olmuştur. Literatüre bakıldığında MMP' lerin dişlerin gömülü kalmasındaki rolünün ise daha önce incelenmediği görülmüştür. Bu çalışmada enzimlerin dentin dokusundaki varlığı ve dağılımının dişlerin gömülü kalması üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla farklı MMP' ler ve bunlarla ilişkili olan TIMP'ler BSA analizi ile incelenmiştir.

Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği spesifik enzim numaraları ve basit bir isimlendirmeye MMP' leri substrat spesifitesine göre 4 ana gruba ayırmıştır (Visse ve Nagase 2003):

1. Kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18)
2. Jelatinazlar (MMP-2, MMP-9)
3. Stromelisinler (MMP-3, MMP-10, MMP-11)
4. Matrisilinler (MMP-7, MMP-26)
5. Membran tip matriks metalloproteinazlar (MT-MMP)
6. Diğer matriks metalloproteinazlar

MMP-1 kollajenaz grubu MMP' lerin bir üyesidir. İnsan fizyolojik sıcaklığında kollajenaz enzimlerinin tümü, intertisiyel kollajenler tip I, II ve III' ü denatüre ederek parçalamaktadır. Aynı zamanda MMP-1; kazeini, jelatini, alfa-1 antitripsini, miyelin temel proteini, L-selektini, pro-TNF'yi, IL-1 beta ve proMMP-2 ve -9' u yıkıma uğratabilmektedir (Görüröğlu-Öztürk 2013). Bu parçalanmış kısımların yıkımı da jelatinazlar tarafından gerçekleştirilmektedir (Ravanti ve ark 1999, Creemers ve ark 2001, Visse ve Nagase 2003). Oral liken planus (OLP) ve beraberinde kronik periyodontitisi/ gingivitisi olan hastalar ile sağlıklı hastaların gingival servikal sıvı ve gingival dokusunda MMP-1, MMP-9 ve TIMP-1 enzimlerinin değerlendirildiği bir çalışmada (Ertuğrul ve ark 2013) oral liken planus ve eşliğinde kronik periyodontitisi olan hastaların gingival sıvısında ve dokusunda MMP-1 ve MMP-9 enzimleri sağlıklı hastalara göre anlamlı derecede yüksek, TIMP-1 ise anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu sonuç kötü oral hijyen ve ek ağız hastalığı durumunda MMP-1 ve MMP-9' un artmış doku yıkımına sebep olabileceğini ve bu artışın OLP' ye göre daha yıkıcı olduğunu göstermektedir. Kubota ve ark. (2008) gingival dokuda MMP-1/ TIMP-2 oranını değerlendirdikleri çalışmalarında sağlıklı kişilerle karşılaştırıldığında periyodontitis vakalarında bu oranın yüksek olduğunu göstermişlerdir. MMP' ler ve onların inhibitörleri arasındaki dengenin herhangi bir yöne kayması hastalık gelişimi ve buna karşı geliştirilecek tedavi için kritik rol oynamaktadır.

Yaranın iyileşme sürecinde yara kenarlarındaki hasarlı yüzeyde re-epitelizasyonu gerçekleştirmek için MMP' lerin keratinosit migrasyonunu sağladığı bilinmektedir. Hücre kültürü çalışmalarında keratinosit migrasyonunun MMP-1' in

proteolitik aktivitesi ile gerçekleştiği görülmüştür (Pilcher ve ark 1997). Kollojenaz rezistans farelerde yara iyileşmesinde gecikme gözlenmiştir (Beare ve ark. 2003).

Bu çalışmada, sürmüş dişlerde gömülü dişlere göre MMP-1 miktarı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuç dişin sürme sürecinde MMP-1 aktivitesiyle yoğun kollajen içeriğe sahip kemik ve folikül rezorbsiyonunun normal gerçekleştiğini ve bu sayede dişin okuluzal düzleme yükseldiğine işaret etmektedir.

Çalışmada incelenen diğer bir protein olan MMP-2 jelatinaz grubunun bir üyesidir. Bu enzimler, kollajenin denatüre edilmiş hali olan jelatinleri, kolaylıkla yıkmaktadır (Allan ve ark 1995, Visse ve Nagase 2003). MMP-2 enziminin ekspresyonu; fibroblastlar, endotel hücreleri, kondrositler, osteoblastlar, monositler, T lenfositler ve keratinositler gibi hücreler tarafından gerçekleştirilmektedir. MMP-2 enzimi, tip I, II, III, IV, V, VII, X kollajeni yıkmakla görevlidir. Literatürde MT1-MMP' in gelişmekte olan dişlerin ameloblast ve odontoblast plazma membranında mevcut olduğu (Caron ve ark 1998) ve MMP-2' nin tanımlanmış en iyi aktivatörü olduğu bildirilmiştir (Sato ve ark 1994,1996). Caron ve ark (2001) MMP-2' nin gelişmekte olan diş dokuları ve amelogenin hidrolizisindeki rolünü inceledikleri çalışmalarında MMP-2' nin MT1-MMP gibi ameloblast ve odontoblastlar tarafından salgılanabileceği ve amelogenini sindirebileceği hipotezi ne sürülmüştür. Çalışma sonucunda MMP-2' nin sırasıyla mine ve pulpa organındaki ameloblast ve odontoblastlar tarafından salgılandiğı ve mine matriks proteinini sindirime uğratabildiği görülmüştür. Bu bulgu MMP-2' nin biyomineralizasyon sürecinde rol olarak mine ve dentin formasyonuna etki ettiğini göstermektedir.

Birçok çalışmada, insanda MMP-2 enzim mutasyonunun, kemiklerde deformasyon ve rezorbsiyon ile sonuçlanan genetik bir hastalığa sebep olduğu görülmüş ve bu enzimin osteogenezde önemli rol oynadığı belirlenmiştir (Martignetti ve ark 2001, Wahlgren 2003, Kerkel ve Saarialho-Kere 2003, Visse ve Nagase 2003, Varun ve ark 2012). Bourd-Boittin ve ark (2005), dentin ve mine oluşumu ve bunların mineralizasyonunda MMP-2, MMP-9 ve MMP-20 enzimlerinin ekspresyonunu embriyonik farenin diş jermi kültüründe değerlendirmişlerdir. Deney ortamına değişen dozlarda sentetik MMP inhibitörü eklenerek MMP inhibisyonu gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar zimografi, Western blot ve immunohistokimyasal analizleri ile değerlendirilmiştir. Yüksek dozda sentetik MMP inhibitörü eklenen

deney kültüründe, mine yapımı ve dentin matriks mineralizasyonunun gerçekleşmediği, ancak preentin salgılanmasının devam ettiği belirlenmiştir. Ayrıca MMP-2 ve MMP-20 enzimlerinin inhibisyonu sonucu bazı matriks proteinlerinin yıkımının azaldığı ve bu proteinlerin ESM' de birikimi ile dentin ve mine matriksinde hatalı mineralizasyon gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu çalışma MMP'lerin mine ve dentin oluşumundaki önemini kanıtlamaktadır.

MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2'nin insan kronal dentinindeki lokalizasyonunu, dentin formasyonuna ve çürük ilerlemesine etkilerini inceleyen bir çalışmada bu proteinlerin konsantrasyonunun, dağılımının ve dentin matriksinin jelatinolitik potansiyelinin farklı dentin derinliklerinde değişiklik gösterdiği belirtilmiştir (Niu ve ark 2001). Bu çalışmaya göre odontoblastlarda, dentinin derin katmanlarında ve mine-dentin birleşiminde MMP-2 konsantrasyonunun yüksek olduğu belirlenmiştir. Beraberinde bulunan TIMP-2' nin de ağırlıklı olarak odontoblastlarda bulunduğu ancak MMP-2' ye göre daha düşük konsantrasyonda olduğu görülmüştür. MMP-9 ve TIMP-1' in derin dentin dokusundan yüzeye doğru gidildikçe daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, bunun yanında TIMP-1'in MMP-9' a göre daha yüksek konsantrasyonda bulunduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu dentin proteinlerinin jelatinolitik potansiyelinde derin dentin dokusundan yüzeye doğru gidildikçe azalma olduğunu göstermektedir. Farklı dentin derinliklerinde değişen potansiyellerde kollajen yıkımının olması bu bulgularla açıklanmaktadır.

Ekbote ve ark (2014) MMP-2 gen mutasyonu ve beraberinde gelişen Torg ve Winchester sendromunu (nodulozis- artropati- oteolizis) inceledikleri çalışmalarında hastada gelişen iskeletsel deformiteleri açıklamışlardır. Bu sendromda Tip IV kollajenin yıkımını gerçekleştiren MMP-2 gen mutasyonu sebebiyle karpal, tarsal ve interfalangeal eklemlerde progresif osteolizis gerçekleşmektedir. Bu raporda Torg sendromu olan bir hastada el ve diz eklemlerinde orta derecede osteolizis, hirsutizm, avuç içi ve ayak tabanında nodüller, korneal opazite ve ılımlı orta yüz dismorfizmi (diş eti hipertrofisi görülmez) görüldüğü belirtilmektedir.

Literatürü destekler şekilde bu çalışmada da normal sürme yolundan sapmamış, mineralizasyon defekti bulunmayan sürmüş dişler incelenmiştir ve bu dişlerdeki MMP-2 enzim miktarı gömülü dişlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. MMP-2 miktarının gömülü dişlerin dentin dokusunda anlamlı derecede düşük bulunması, bu dişlerin fizyolojik sürmeyi

gerçekleştirememesinde MMP-2' nin etkin olabileceğini, MMP-2'nin diş çevresindeki alveol kemikte osteogenezis sürecinde de sapsmalara sebep olarak sürmeyi engelleyebileceğini düşündürmektedir.

MMP-3 MMP ailesinin en geniş substart spesifitesine sahip enzimidir. Stromelisin-1 veya proteoglikanaz olarak da isimlendirilmiştir. Proteoglikanları yıkarak çözünebilir, serbest glikozaminoglikanların (GAG) oluşmasını sağlarlar (Boukpepsi ve ark. 2008). Aynı zamanda bu enzim laminini, fibronektini, tip IV ve IX kollajeni, tip I kollajenin propeptid yapısını ve denatüre kollajenlerin tamamının yıkımından sorumludur. Ek olarak MMP-1 ve MMP-9'un aktive olmasında rol oynamaktadır (Bullard ve ark 1999b, Wang ve ark 2010). MMP-3' ün primer olarak fibroblastlardan, sinovial hücrelerden ve kondrositlerden sentezlendiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Wang ve ark 2010, Welgus ve ark 1990, Saarialho-Kere 1994). Çalışmalarda tavşanın korneal stromasında yara iyileşmesinde (Girard ve ark 1993), kronik ülserlerde keratinositlerde ve stromal hücrelerde (Saarialho-Kere ve ark 1994), insanlarda yanık yara sıvılarında (Young ve ark 1994), insan cildinde iyileşmeyen ülserasyonlarda (Vaalamo ve ark 1996) MMP-3' ün aktif rol oynamasıyla ESM' nin yeniden şekillendiği gösterilmiştir. MMP'lerin yara iyileşmesindeki rolü MMP-3 geni susturulmuş farelerde yara kontraksiyonunda ve yara iyileşmesinde görülen gecikmeler ile kanıtlanmıştır (Bullard ve ark 1999a). Bu çalışmalarda geni susturulmuş farelerde oluşturulan cilt yaralarında normal farelere göre çok daha yavaş yara yeri kontraksiyonu gerçekleştiği görülmüştür. Bu durum iyileşmenin ilk fazı olan kontraksiyonda meydana gelmiştir çünkü stromal fibroblast organizasyonu gerçekleşmemektedir. Bunun yanında geni susturulmuş farelerde hücre göçü ve epitelizasyonun MMP-3 eksikliğinden etkilenmediği tespit edilmiştir.

Diş sürmesini etkileyen önemli faktörlerden biri, dişin folikül yapısıdır. Folikülün yüksek fibrotik yapı göstermesi sürme yolunda direnç oluşturarak ve dişin gömülü kalmasına sebep olmaktadır. Gorski ve Marks (1992) köpek premolar dişlerinin dental folikülünde yaptıkları araştırmada diş sürmesi sırasında MMP-1 ve MMP-3 enzimlerinde yüksek ekspresyon geliştiğini belirlemişlerdir. Kim (2007) çoklu gömülü dişi bulunan iki vakadan elde ettiği dental folükülleri incelemiş ve MMP-3 ve MMP-12' de down-regülasyon olduğunu vurgulamıştır. Kim ve ark (2008) normal ve hiperplastik dental folükülleri inceledikleri bir çalışmada, hiperplastik foliküllerde MMP-1, MMP-3, MMP-10, MMP-16 enzim ekspresyonlarının azaldığını, kollajen tip I, IV, VIII, XI ve TIMP-1, TIMP-3 ve

TIMP-4 enzim ekspresyonlarının ise arttığını görmüşlerdir. MMP ekspresyonundaki bu azalma kollajen yıkımının da azalmasına neden olarak; bağ doku artışıyla karakterize hiperplastik dental folikül gelişimine sebep olmaktadır. Bu durum dişin gömülü kalma etyolojisinde önemli bir yere sahiptir.

Çalışmamızda MMP-3 miktarı, sürmüş ve gömülü dişlerin dentin dokusunda karşılaştırıldığında, sürmüş dişlerdeki MMP-3 miktarının istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. MMP-3' ün fibroblastlar üzerindeki etkinliği göz önüne alındığında diş gelişim sürecinde rol alan fibroblast kaynaklı MMP-3' ün sürmüş dişlerde yüksek miktarda olması dişin normal fizyolojik sürme sürecinde bu enzimin aktif rol oynadığını kanıtlar niteliktedir. Den Besden ve ark. (1998) sığır molarlarında yaptıkları çalışmada dentin tübüllerinde ve preentin tabakasında MMP-3 varlığını tespit etmişlerdir. Ek olarak Hall ve ark. (1999) sıçan keser dişlerinde yaptıkları çalışmada MMP-3' ün mevcut olduğunu rapor etmişlerdir. Boukpepsi ve ark. MMP-3' ün insan dentininde de var olduğunu göstermişlerdir. Buna ek olarak yakın zamanda çeşitli çalışmalar sağlıklı insan dentininde MMP-3 varlığını kanıtlamıştır (Randall 2002, Fanchon 2004, Wang 2012) . Mazzoni ve ark (2011) dentin dokusunda SEM analizi ile MMP-3'ü inceledikleri bir çalışmada, bu enzimin çoğunlukla intertubuler kollajen fibriler ağ yapısında, enzimin fibrillere direk veya indirek olarak bağlanmış olarak bulunduğunu belirlemişlerdir. Bunun yanında MMP konsantrasyonlarının sklerotik ve normal dentinde karşılaştırıldığı bir çalışmada sklerotik dentin gelişmesinde MMP' lerin etkin rol oynadığı belirlenmiştir (Wang ve ark 2012). Bu çalışmada özellikle MMP-2 ve MMP-3 konsantrasyonlarının atrizyona uğramış dişlerde (sklerotik ve sklerotik olmayan dentinde) atrizyona uğramamış dişlere göre önemli derecede düşük olduğu belirlenmiştir. MMP konsantrasyonundaki düşüşün hastanın yaşı ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Dişler sıcaklık değişimi, çiğneme stresleri ve çeşitli ağız hastalıkları gibi etkenlerle yaşlanmaktadır. Bu gibi yaşam boyu devam eden stimülasyonlar pro-MMP' leri aktive ederek dentin yapısının bozulmasına sebep olmaktadır. Bunun sonucu olarak dentinin, bozunmuş kollajen matriksinde bulunan MMP içeriğinde de düşüş olmakta ve bu düşüş yaşla birlikte artmaktadır (Wang ve ark 2012). Gömülü dişlerle karşılaştırıldığında sürmüş dişlerin daha fazla basma stresi, sıcaklık değişimi ve tükürük mikroorganizmaları gibi etkenlere maruz kaldığı bilinmektedir. Çalışmamızda MMP-3 miktarı sürmüş dişlerde gömülü dişlerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ( $\alpha=0.01$ )



bulunmuştur. Literatürün aksine bu çalışmada çeşitli streslere ve stimülasyonlara maruz kalan sürmüş dişlerde MMP-3 miktarı gömülü dişlere göre anlamlı derecede yüksek bulunması bazı dış etkenlerin MMP-3 aktivasyonuna sebep olduğunu düşündürmektedir.

Periapikal lezyonlarda MMP-2 ve MMP-3 etkinliğini araştıran bir çalışmada (Menezes-Silva ve ark 2012) kemikte yüksek oranda bulunan tip I kollajenin MMP' ler tarafından yıkıldığı ve bu durumun dentin çürüklerinde ve periapikal lezyonların gelişiminde etkili olduğu belirtilmiştir. Dentin çürüklerinin progresif ilerlediği, büyük boyutlarda periapikal lezyonların geliştiği ve kanal tedavisi sonrasında iyileşmede başarısızlıklar olan vakalarda MMP-2 ve MMP-3 genlerinde varyasyon olduğu tespit edilmiştir. Bu genetik varyasyonun kemik remodelinginde, rejenerasyonunda ve derin çürük gibi uyarılara karşı gelişen enflamasyonda da değişimlere sebep olduğu gözlenmiştir. Çalışmada bu bulgulara dayanarak MMP-2 ve MMP-3 gen mutasyonlarının tespit edilmesi hızlı ilerleyecek dentin çürükleri ve periapikal lezyonlar için bir belirteç olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir. Çalışmamızda gömülü dişlerin dentin dokusunda daha az miktarda MMP-2 ve MMP-3 enzimleri tespit edilmiştir. Diş ve çevre dokudan kaynaklanan bu enzimlerin gömülü dişlerde az miktarda mevcut olması normal seyrinde gerçekleşemeyen diş sürmesinde bu enzimlerin etkili olabileceğini kanıtlar niteliktedir.

Dentin matriksinde bulunan MMP' lerin dentin çürüklerinde ve rezin bağlı dentin matriksinin yıkımında anahtar rol oynadığı bilinmektedir (Shimada ve ark 2009). MMP-9'un insan dentinindeki varlığını araştıran bir çalışmada enzim yoğunlukları immunoassay yöntemi ile değerlendirilmiştir (Mazzoni ve ark 2007). MMP-9' un sadece çürüklü dentinde değil, sağlıklı dentinde de mevcut olduğu tespit edilmiştir. MMP-2 gibi MMP-9' un da sağlıklı dentinde bulunması bu enzimlerin çürüğün ilerleme sürecine, dentin organik matriksinin yıkımına katkı sağlayacağı ve rezin- dentin arayüzünde bozunmalara yol açabileceği bildirilmiştir (Tjäderhane ve ark 1998, Sulkala ve ark 2001, Nashitani 2006) . Bu bilgi ışığında, çalışmada incelenen yapısal bütünlüğü bozulmamış, sürmüş ve gömülü dişlerin dentininde MMP-9 yoğunluğu karşılaştırılmıştır.

MMP-9 polimorfonükleer lökositlerde bulunur ve normal büyüme, yara iyileşmesi ve enflamasyon gibi fizyolojik süreçlerde rol oynar. Bunların yanında MMP-9' un bazı kanser tiplerinde de yüksek düzeyde eksprese edildiği görülmüştür (Omar ve ark 2015). MMP-9, transforme edici büyüme faktör (Transforming growth

factor, TGF- $\beta$ ) ve vasküler endotelyal büyüme faktörün (vascular endothelial growth factor, VEGF) salınımını arttırarak tümör invazyon ve anjiogenezisine katkı sağlamaktadır (Yu ve Stamenkovic 2000). Liu ve ark (2010) baş boyun kanserlerinde tümöral dokularda normal dokulara göre MMP-9 ekspresyonunda artış olduğunu ve baş-boyunun skuamoz hücreli karsinomalarında kötü prognozu işaret ettiğini göstermiştir.

Vu ve ark (1998) MMP-9 gen mutasyonu olan homozigot farelerde yaptıkları çalışmada iskeletsel büyüme plaklarında anormal vaskülarizasyon ve ossifikasyon geliştiğini göstermişlerdir. Gen mutasyonu olan bu farelere kemik iliği transplantasyonu yapıldıktan sonra vaskülarizasyonun ve ossifikasyonun düzenlendiği görülmüş ve bunun kemik iliği orijinli MMP-9 tarafından gerçekleştirildiği belirlenmiştir. Aynı zamanda MMP-9 gen mutasyonu bulunan farelerin büyüme plaklarında yapılan kültür incelemesinde anjiyojenik aktivatör salınımında gecikme tespit edilmiştir. Bu bulgu, MMP-9' un anjiogenezisde de rol oynayan bir proteinaz olduğunu göstermektedir. Aynı çalışmada MMP-9' un apoptozis üzerine etkinliği incelenmiş ve doku remodelingi ve neoanjiogenezis sırasında bu proteinazların apoptozisi arttırdığı belirtilmiştir. MMP-9' un kanser hücreleri üzerindeki etkinlikleri değerlendirildiğinde tümör büyümesinde ve anjiyogenezisinde kanser hücrelerinin apoptozisini azalttıkları belirlenmiştir. Literatürde bahsedildiği gibi MMP-9 mutasyonunda veya yüksek ekspresyonunda yumuşak ve sert dokuyu etkileyen çeşitli anomali ve/veya patolojiler meydana gelmektedir. Çalışma ve kontrol grubuna dâhil olan dişlerin asemptomatik, çürüksüz dişler olduğu ve büyüme-gelişimini tamamlamış sağlıklı bireylerden elde edildiği göz önünde bulundurulduğunda her iki grup arasında MMP-9 miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması tahmin edilebilir bir sonuçtur.

MMP-13 ilk kez meme kanserinde tespit edilmiştir (Freije ve ark 1994). Farklı çalışmalarda baş-boyun skuamoz hücreli karsinomunda, kronik enflamasyonlu oral mukozal dokuda, kondrosarkoma, melanoma gibi farklı patolojik dokularda da var olduğu kanıtlanmıştır (Johansson ve ark 1997, Uitto ve ark 1998, Leeman ve ark 2002). Bunların yanında fizyolojik dokularda da MMP-13 bulunmaktadır. Fibroblastlarda, iyileşmekte olan diş eti dokusunda, gelişen veya remodele olan iskeletin osteoblastında MMP-13 mevcuttur ( Ravanti ve ark 1999, Johansson ve ark 1997, Reboul ve ark 1996, Stahle-Bäckdahl ve ark 1997). Fizyolojik şartlarda

gelişmesini tamamlamış, olgun dokularda MMP-13 yoktur veya yok denecek kadar azdır (Sulkala ve ark 2004). İnsanda sağlıklı ve çürük diş pulpasının incelendiği bir çalışmada MMP-13 ekspresyonunun diğer MMP' lere göre çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. pro MMP-13 ve aktif MMP-13 düzeyleri her iki grupta odontoblast ve pulpa dokusunda Western blot ile değerlendirildiğinde odontoblastlarda ve pulpa dokusunda MMP-13 düzeylerinde herhangi bir farklılık olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda gömülü ve sürmüş diş gruplarının dentin dokuları karşılaştırıldığında MMP-13 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Çalışmada sağlıklı, genç bireylerden elde edilen yirmi yaş dişleri hem herhangi bir patoloji içermemektedir hem de gelişimi tamamlanmıştır. Literatür bilgilerine dayanarak bu gruplar arasında herhangi bir fark bulunmaması beklenen bir sonuç olmuştur.

MMP'ler ve TIMP'ler normal dokularda düşük düzeyde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında kemiğin yeniden modellenmesi, yara iyileşmesi, anjiyogenez, inflamasyon, apoptozis, immün cevap gelişimi, embriyonik gelişim, organ morfogenez, sinir hücre gelişimi, ovülasyon, postpartum uterin involüsyonu, endometriyal siklus ve saç folikülü siklus yer almaktadır (Nagase H, Woessner JF Jr. 1999). MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki denge hem büyüme ve gelişim gibi fiziksel süreçlerde hem de kanser ve periodontitis gibi patolojik durumlarda değişkenlik gösterir (Erikli ve Ersöz 2011, Chang 2002, Kerkelä ve Saarialho-Kere 2003, Lambert 2004).

Bugüne kadar omurgalılarda 4 çeşit TIMP (TIMP- 1, TIMP- 2, TIMP- 3, TIMP- 4) olduğu belirlenmiştir (Gomez ve ark 1997, Brew ve ark 2000, Visse ve Nagase 2003). MMP'ler bağlanma yatkınlıklarında farklılık olmasına rağmen dört TIMP tarafından inhibe edilebilirler. Membran tip (MT-) MMP'ler olarak da bilinen farklı bir grup, hücre membranı ile sınırlandırıldıklarından dolayı TIMP-1 tarafından baskılanamazlar (Olson 1997, Baker 2002). TIMP-1 ve TIMP-2; hücreler için etkili bir büyüme faktörü olarak bildirilmiştir (Hayakawa 1992, Hayakawa 1994). In vitro çalışmalarda TIMP-1'in meme kanseri hücrelerine bağlandığı ve doza bağımlı mutajenik etkisi olduğu, aynı zamanda TIMP-1'in aort kası hücrelerinde ve keratositlerde de mutajenik etkisi olduğu bildirilmiştir (Erikli ve Ersöz 2011, Luparello ve ark. 1999, Akahane ve ark. 2004). MMP-2 ve MMP-9'un inhibitörleri sırasıyla TIMP-2 ve TIMP-1' dir. MMP-2 ve MMP-9'un aktivasyonu, MMP aktivatörlerinin ve inhibitörlerinin dengesinin değişimine bağlı olarak oluşur (Chang

ve ark 2002, Kerkelä ve Saarialho- Kere 2003, Lambert ve ark 2004). TIMP-2' nin tüm MMP' leri inhibe etmesinin yanı sıra, MMP-8 üzerinde güçlü bir inhibisyon etkisinin var olduğu bilinmektedir (Kubota 1997).

TIMP'lerin apoptosisin düzenlenmesinde de rol oynadığı düşünülmektedir. TIMP-1; meme epitelyal hücrelerinde ve B-lenfositlerinde apoptosisi azaltırken TIMP-2'nin de melanoma hücre dizilerinde apoptozisi inhibe ettiği bilinmektedir (Guedez ve ark. 1998, Ries 2014, Zurac 2016). TIMP-3 basit retinitis pigmentosa olarak da bilinen retinanın dağılmasına neden olan otozomal dominant hastalıktan etkilenmiş retina hücrelerinde apoptozisi uyarmaktadır (Jones ve ark. 1994, Chen ve ark. 2014). TIMP'lerin apoptozis üzerine etkinlikleri hücre tipine özel olarak farklılık göstermektedir (Verstappen ve Von den Hoff 2006). TIMP-4 trombosit agregasyonu ve kümelenmesinde rol almaktadır. Ayrıca endometriyal doku remodelasyonunda ve hormonal düzenlemede de rol oynayabileceği düşünülmektedir (Green ve ark 1997, Radomski ve ark 2002). Çalışmalarda TIMP-4' ün kardiyovasküler hastalıklar, servikal kanser, meme kanseri gibi çeşitli patolojilerde yüksek ekspresyon seviyesi gösterdiği rapor edilmiştir (Koskivirta ve ark 2006, Lizarraga 2005, Kaur ve ark 2016, Clancy ve ark 2016).

Normal dokuda düşük seviyede olduğu bilinen MMP ve TIMP'lerin insan dentin dokusundaki fonksiyonu birçok çalışmada incelenmiştir (Niu ve ark 2011, Ishiguro ve ark 1994, Goldberg ve ark 2003). Bu çalışmada TIMP-1 enzim miktarı, gömülü dişlerle karşılaştırıldığında sürmüş dişlerde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu durum sürmüş dişlerde özellikle MMP-9 aktivitesine bağlı degradasyonun azaldığını ve fizyolojik yapım-yıkım basamaklarının tamamlanmış olduğuna işaret ediyor olabilir.

Sahlberg ve ark (1999) odontoblastlarda bulunan MMP-2/ TIMP-2 kompleksinin, osteoklastlarda yer alan MMP-9/ TIMP-3 kompleksiyle beraber çalışması sonucunda diş sürmesinin normal süreçte gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda sürmüş ve gömülü diş grupları arasında TIMP-2 enzim miktarı anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Ancak MMP-2 sürmüş dişlerde anlamlı derecede yüksek miktarda bulunmuştur. Bu sonuç dişin sürme sürecinde fizyolojik dengenin MMP-2 lehine kaydığını ve bunun sonucu olarak TIMP-2 miktarında düşüş olduğunu göstermektedir. TIMP-4 miktarı da benzer şekilde gruplar arasında farklılık göstermemektedir. TIMP-2 ve TIMP-4 yarışmalı inhibisyonla MMP-2

aktivitesini baskılamaktadır (Hernandez-Barrantes ve ark 2001). TIMP-2 ve TIMP-4' ün benzer fizyolojik süreci yönettikleri düşünüldüğünde, TIMP-4' ün MMP-2 miktarının yüksek bulunduğu sürmüş diş grubundaki miktarı ile gömülü diş grubundaki miktarı arasında anlamlı bir fark olmaması beklenen bir sonuçtur.



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-2 ve TIMP-4 miktarları sürmüş ve gömülü dişlerde BSA analizi ile değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda MMP-1, MMP-2 ve TIMP-1'in sürmüş dişlerde anlamlı yüksek olduğu görülmüştür. Bu proteinlerin fizyolojik süreçlerin normal şekilde ve kesintisiz devam etmesi için gerekliliği pek çok çalışmada kanıtlanmıştır. Bu çalışmada ise sürmüş dişlerde MMP-1, MMP-2 ve TIMP-1 değerlerinin anlamlı ölçüde yüksek bulunması bu dişlerde sürme basamaklarının sorunsuz işlediğini gösterirken, gömülü dişlerde bu proteinlerin anlamlı ölçüde düşük bulunması gömülü kalma sürecinde bu proteinlerin etkili olabileceğini göstermiştir.

Son yıllarda, özellikle yirmi yaş dişleri çeşitli cerrahi uygulamalar için greft materyali olarak kullanılmaktadır. Bu çalışma gösteriyor ki; bu tür uygulamalar için sürmüş dişlerin tercih edilmesi yüksek miktarda MMP içermeleri sebebiyle daha avantajlı olacaktır.

## 6. KAYNAKLAR

- Adeyemo WL. Do pathologies associated with impacted lower third molars justify prophylactic removal? A critical review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(4):448-52.
- Archer W.H. *Oral and Maxillofacial Surgery.* 5th Ed. Vol I. W.B. Saunders Company, Philadelphia 1975. p.:250-388.
- Akahane T, Akahane M, Shah A, Thorgeirsson UP. TIMP-1 stimulates proliferation of human aortic smooth muscle cells and Ras effector pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;324:440-445.
- Almendros- Marques N, Berini-Ayres L, Gay-Escoda C. Influence of lower third position on the incidence of preoperative complications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(6):275-32.
- Armstrong SR, Vargas MA, Chung I, Pashley DH, Campbell JA, Laffoon JE, Qian F. Resin-dentin interfacial ultrastructure and microtensile dentin bond strength after five-year water storage. *Oper Dent* 2004;29:705-712.
- Avery JK. *Essential of oral histology and embryology. A Clinical Approach.* St. Louis, Baltimore, Boston. Mosby Year Book, 1992.
- Baker AH, Edwards DR, Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci* 2002;115:3719-3727.
- Bartlett JD, Beniash E, Lee DH, Smith CE. Decreased mineral content in MMP-20 null mouse enamel is prominent during the maturation stage. *J Dent Res* 2004;83:909-913.
- Bartlett JD, Zhou Z, Skobe Z, Dobeck JM, Tryggvason K. Delayed tooth eruption in membrane type-1 matrix metalloproteinase deficient mice. *Connect Tissue Res.* 2003;44(1):300-4.
- Beare AH, O'kane S, Krane SM, Ferguson MW. Severely impaired wound healing in the collagenase-resistant mouse. *J Invest Dermatol* 2003;120:153-63.
- Beertsen W, Holmeck K, Niehof A, Bianco P, Chrysovergis K, Birkedal-Hansen H, Everts V. On the role of MT1-MMP, a matrix metalloproteinase essential to collagen remodeling, in murine molar eruption and root growth. *Eur J Oral Sci.* 2002;110(6):445-51.
- Biljana E, Boris V, Cena D, Veleska-Stefkowska D. Matrix metalloproteinases (with accent to collagenases). *J Cell Anim Biol.* 2011; 5(7):113-20.
- Bode W, Fernandez-Catalan C, Tschesche H, Grams F, Nagase H, Maskos K. Structural properties of matrix metalloproteinases. *Cell Mol Life Sci.* 1999;55(4):639-52.

- Boire A, Covic L, Agarwal A, et al. PAR1 is a matrix metalloprotease -1 receptor that promotes invasion and tumorigenesis of breast cancer cells. *Cell* 2005; 120: 303–13.
- BoukpeSSI T, Menashi S, Camoin L, Tencate JM, Goldberg M, Chaussain-Miller C. The effect of stromelysin-1 (MMP-3) on non-collagenous extracellular matrix proteins of demineralized dentin and the adhesive properties of restorative resins. *Biomaterials* 2008;29(33):4367–73.
- Bourd-Boittin K, Fridman R, Fanchon S, Septier D, Goldberg M, Menashi S. Matrix metalloproteinase inhibition impairs the processing formation and mineralization of dental tissues during mouse molar development. *Exp Cell Res.* 2005;304(2):493-505.
- Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjäderhane L, et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. *Dent Mater*,2010; 26:320-325.
- Bullard KM, Lund L, Mudgett JS, Mellin TN, Hunt TK, Murphy B et al. Impaired wound contraction in stromelysin-1-deficient mice. *Ann Surg.* 1999;230:260-5. (a)
- Bullard KM, Mudgett J, Scheuenstuhl H, Hunt TK, Banda MJ. Stromelysin-1-Deficient Fibroblasts Display Impaired Contraction in Vitro. *Journal of Surgical Research.* 1999; 84:31-34. (b)
- Butler WT. Dentin matrix proteins and dentinogenesis. *Connect Tissue Res.* 1995;33(1-3):59-65. Review.
- Caron C, Xue J, Sun X, Simmer J.P, Bartlett J.D. Gelatinase A (MMP-2) in Developing Tooth Tissues and Amelogenin Hydrolysis. *J Dent Res* 80(7):1660-1664, 2001.
- Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldini S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res*, 2007; 86:90-94.
- Caterina JJ, Skobe Z, Shi J, Ding Y, Simmer JP, Birkedal-Hansen H, Bartlett JD. Enamelysin (matrix metalloproteinase 20)-deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. *J Biol Chem* 2002; 277: 49598-49604.
- Chang YC, Yang SF, Lai CC, Liu JY, Hsieh YS. Regulation of matrix metalloproteinase production by cytokines, pharmacological agents and periodontal pathogens in human periodontal ligament fibroblast cultures. *J Periodontal Res* 2002;37:196-203.
- Chen Y, Brown NJ, Jones R, Lewis CE, Mujamammi AH, Muthana M, Seed MP, Barker MD. A peptide derived from TIMP-3 inhibits multiple angiogenic growth factor receptors and tumour growth and inflammatory arthritis in mice. *Angiogenesis* (2014) 17:207–219.
- Clancy P, Koblar S, Golledge J. Involvement of Angiotensin II Type 1 and 2 Receptors in Gelatinase Regulation in Human Carotid Atheroma in vitro. *J Atheroscler Thromb.* 2016 Jul 1;23(7):773-91.



- Creemers EE, Cleutjens JP, Smits JF, Daemen MJ. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: a new approach to prevent heart failure? *Circ Res.* 2001;89(3):201-10.
- D'Alonzo RC, Selvamurugan N, Krane SM, and Partridge NC. Bone proteinases. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, editors. *Principles of bone biology*. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 2002. P.251-64.
- Damlar İ, Altan A, Tatlı U, Arpağ OF. Retrospective Investigation Of the Prevalence of Impacted Teeth in Hatay. *Cukurova Medical Journal* 2014; 39 (3):559-565.
- Dayan D, Binderman I, Mechanic GL. A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix. *Arch Oral Biol* 1983;28:185- 187.
- Demeule M, Brossard M, Page M, Gingras D, Beliveau R. Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins. *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1478:51-60.
- D' Souza R. Developmental of the pulpdentin complex. In: Hargreaves K, Goodis H, eds, *Seltzer and Bender's Dental Pulp*, Chicago: Quintessence, 2002; 13-40.
- Ekbote AV, Danda S, Zankl A, Mandal K, Maguire T, Ungerer K. Patient with Mutation in the Matrix Metalloproteinase 2 (MMP2) Gene - A Case Report and Review of the Literature. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2014;6(1):40-46.
- Embery G, Hall R, Waddington R, Septier D, Goldberg M. Proteoglycans in dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2001;12(4):331-49.
- Erikli H, Ersöz E. Matrix metalloproteinases: effects on dental tissues and caries. *Cumhuriyet Dent J* 2011;14(3):246-257.
- Ertuğrul SA, Dursun R, Dundar N, Avunduk MC, Hakkı SS. MMP-1, MMP-9, and TIMP-1 levels in oral lichen planus patients with gingivitis or periodontitis. *Archives of Oral Biol.* 2013; 58: 843-852.
- Fanchon S, Bourd K, Septier D, Everts V, Beertsen W, Menashi S, et al. Involvement of matrix metalloproteinases in the onset of dentin mineralization. *European Journal of Oral Sciences* 2004;112(2):171-6.
- Freije, J.M., D'iez-Itza, I., Balbín, M., Sánchez, L.M., Blasco, R., Tovilia, J., and López-Otin, C. Molecular cloning and expression of collagenase-3, a novel human matrix metalloproteinase produced by breast carcinomas. *J. Biol. Chem.* 1994, 269:16766-16773.
- Garbisa S, Sartor L, Biggin S, Salvato B, Benelli R, Albini A. Tumor gelatinases and invasion inhibited by the green tea flavanol epigallocatechin-3-gallate. *Cancer.* 2001;91: 822-832.

- Girard, M. T., Matsubara, M., Kublin, C., Tessier, M. J., Cintron, C., and Fini, M. E. Stromal fibroblasts synthesize collagenase and stromelysin during long term tissue remodeling. *J. Cell Sci.* 104: 1001, 1993.
- Goldberg M, Septier D, Bourd K, Hall R, George A, Goldberg H, et al. Immunohistochemical localization of MMP-2, MMP- 9, TIMP-1, and TIMP-2 in the forming rat incisor. *Connect Tissue Res* 2003;44:143–53.
- Goldberg M, Smith AJ. Cells And Extracellular Matrices Of Dentin And Pulp: A Biological Basis For Repair And Tissue Engineering. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004 Jan 1;15(1):13-27.
- Golub LM, Lee HM, Ryan ME, Giannobile WV, Payne J, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple nonantimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res* 1998;12:12-26.
- Gorski JP, Marks SCJ. Current concepts of the biology of tooth eruption. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1992;3(3):185-206.
- Görüroğlu Öztürk Ö. Matrix Metalloproteinase Enzyme Family. *Archives Medical Review Journal* 2013; 22(2):209-220.
- Greene J, Wang M, Liu YE, Raymond LA, Rosen C, Shi YE. "Molecular cloning and characterization of human tissue inhibitor of metalloproteinase 4". *J Biol Chem.* Jan 1997. 271 (48): 30375–30380.
- Guedez L, Stetler-Stevenson WG, Wolff L, Wang J, Fukushima P, Mansoor A, et al. In vitro suppression of programmed cell death of B cells by tissue inhibitor of metalloproteinases-1. *J Clin Invest* 1998;102:2002-2010.
- Hall R, Septier D, Embery G, Goldberg M. Stromelysin-1 (MMP-3) in forming enamel and predentine in rat incisor coordinated distribution with proteoglycans suggests a functional role. *Histochem J* 1999;31:761–70.
- Hashimoto M, Tay FR, Ohno H, Sano H, Kaga M, Yiu C, Kumagai H, Kudou Y, Kubota M, Oguchi H. SEM and TEM analysis of water degradation of human dentinal collagen. *J Biomed Mater Res* 2003;66:287-298.
- Hattab FN. Positional changes and eruption of impacted mandibular third molars in young adults. A radiographic 4-year follow-up study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997; 84 (6): 604-8.
- Hayakawa T, Yamashita K, Tanzawa K, Uchijima E, Iwata K. Growthpromoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) for a wide-range of cells. A possible new growth factor in serum. *FEBS Lett* 1992;298:29-32.
- Hayakawa T, Yamashita K, Ohuchi E, Shinagawa A. Cell growthpromoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2). *J Cell Sci* 1994;107:2373-2379.

- Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005;84:741-746.
- Hernandez-Barrantes S, Shimura Y, Soloway PD, Sang QA, Fridman R. Differential roles of TIMP-4 and TIMP-2 in pro-MMP-2 activation by MT1-MMP. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001 Feb 16;281(1):126-30.
- Holmbeck K, Bianco P, Caterina J, Yamada S, Kromer M, Kuznetsov SA, Mankani M, Robey PG, Poole AR, Pidoux I, Ward JM, Birkedal-Hansen H. MT-1-MMP-deficient mice develop dwarfism, osteopenia, arthritis, and connective tissue disease due to inadequate collagen turnover. *Cell*. 1999;99(1):81-92.
- Hou P, Troen T, Ovejero MC, Kirkegaard T, Andersen TL, Byrjalsen I, Ferreras M, Sato T, Shapiro SD, Foged NT, Delaisse JM. Matrix metalloproteinase-12 (MMP-12) in osteoclasts: new lesson on the involvement of MMPs in bone resorption. *Bone*. 2004;34(1):37-47.
- Huet E, Cauchard JH, Berton A, Robinet A, Decarme M, Hornebeck W, Bellon G. Inhibition of plasmin-mediated prostomelysin-1 activation by interaction of long chain unsaturated fatty acids with kringle 5. *Biochem Pharmacol*. 2004;67:643-654.
- Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1996;23:1127-1132.
- Ishiguro K, Yamashita K, Nakagaki H, Iwata K, Hayakawa T. Identification of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in human teeth and its distribution in cementum and dentine. *Archives of Oral Biology*. 1994; 39:345-349.
- İbrahim Damlar, Ahmet Altan, Ufuk Tatlı, Osman Fatih Arpağ. *Cukurova Medical Journal* 2014; 39 (3):559-565.
- Jenkins K, Javadi M, Borghaei RC. Interleukin-4 suppresses IL-1-induced expression of matrix metalloproteinase-3 in human gingival fibroblasts. *J Periodontol*. 2004; 75(2):283-91.
- Jones SE, Jomary C, Neal MJ. Expression of TIMP3 mRNA is elevated in retinas affected by simplex retinitis pigmentosa. *FEBS Lett* 1994;352:171-174.
- Johansson N, Airola K, Grenman R, Kariniemi AL, Saarialho-Kere U, Kahari VM. Expression of Collagenase-3 (Matrix Metalloproteinase-13) in Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck. *American Journal of Pathology*, Vol. 151, No. 2, August 1997.
- Johansson, N., Saarialho-Kere, U., Airola, K., Herva, R., Nissinen, L., Westermarck, J., Vuorio, E., Heino, J., and Kahari V.M. (1997). Collagenase-3 (MMP-13) is expressed by hypertrophic chondrocytes, periosteal cells, and osteoblasts during human fetal bone development. *Dev.Dyn*. 208:387–397.

- Karadzov OM, Sedlecki-Gvozdenovic SD, Demajo M, Milovanovic OK. The effects of X-ray irradiation of the head region of eight-day-old rats on the development of molar and incisor teeth. *Strahlentherapie*. 1985;161: 448-452.
- Kaur N, Sunil Kumar BV, Mahajan K, Singh S. Expression and characterization of tissue inhibitor of metalloproteinase 4 from complex canine mammary carcinomas. *J Immunoassay Immunochem*. 2016;37(5):515-26.
- Kerkelä E, Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases in tumor progression: focus on basal and squamous cell skin cancer. *Exp Dermatol*. 2003;12(2):109-25.
- Kim SG. Multiple unerupted teeth related to the under-expression of MMP-3, MMP-12 and the over-expression of FGF-5. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007;65(9):43.e56.
- Kim SG, Kim MH, Chae CH, Jung YK, Choi JY. Downregulation of matrix metalloproteinases in hyperplastic dental follicles results in abnormal tooth eruption. *BMB Rep*. 2008;41(4):322-7.
- Kivela-Rajamaki M, Maisi P, Srinivas R, Tervahartiala T, Teronen O, Husa V, Salo T, Sorsa T. Levels and molecular forms of MMP-7 (matrilysin-1) and MMP-8 (collagenase-2) in diseased human peri-implant sulcular fluid. *J Periodontal Res*. 2003;38:583-590.
- Koskivirta, I., Rahkonen, O., Mäyränpää, M. et al. *Histochem Cell Biol* (2006) 126: 335. doi:10.1007/s00418-006-0163-8.
- Kronmiller JE, Beeman CS, Nguyen T, Bemdt W. Blockade of the initiation of murine odontogenesis in vitro by critical, an inhibitor of endogenous retinoic acid synthesis. *Arch Oral Biol*. 1995;40:645-652.
- Kruger E, Thomson WM, Konthasinghe P. Third molar outcomes from age 18 to 26: findings from a population-based New Zealand longitudinal study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;92(2):150-5.
- Kruger, GO. *Oral and Maxillofacial Surgery*. 6th Edition. Mosby, St Louis, Mo. 1984.
- Kubota T, Matsuki Y, Nomura T, Hara K. In situ hybridization study on tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) mRNA-expressing cells in human inflamed gingival tissue. *J Periodontal Res*. 1997;32:467-72.
- Kubota T, Itagaki M, Hoshino C, Nagata M, Morozumi T, Kobayashi T, et al. Altered gene expression levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in periodontitis-affected gingival tissue. *J Periodontol* 2008;79:166-73.
- Kugelberg CF, Ahlström U, Ericson S, Hugoson A, Kvint S. Periodontal healing after impacted lower third molar surgery in adolescents and adults. A prospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1991;20(1):18-24.
- Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004;49:187-198.

- Leeman, M.F., Curran, S., and Murray, G.I. (2002). The structure, regulation, and function of human matrix metalloproteinase-13. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 37:149–166.
- Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1993;4(5):679-728.
- Lizarraga F, Espinosa M, Maldonado V, Melendez-Zajgla J. Tissue inhibitor of metalloproteinases-4 is expressed in cervical cancer patients. *Anticancer Res.* 2005 Jan-Feb;25(1B):623-7.
- Luparello C, Avanzato G, Carella C, Pucci-Minafra I. Tissue inhibitor of metalloprotease (TIMP)-1 and proliferative behaviour of clonal breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 1999;54:235-244.
- Lübbers TH, Matthews F, Damerau G, Kruse LA, Obwegeser AJ, Grätz WK, Eyrich KG. Anatomy of impacted lower third molars evaluated by computerized tomography: is there an indication for 3- dimensional imaging? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011. 111:547-550.
- Lynch CC, Hikosaka A, Acuff HB, et al. MMP-7 promotes prostate cancer-induced osteolysis via the solubilization of RANKL. *Cancer Cell* 2005; 7: 485–96.
- Marks SCJ, Schroeder HE. Tooth eruption: theories and facts. *Anat Rec.* 1996;245(2):374-93.
- Marshall GW, Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent.* 1997;25:441-458.
- Martignetti JA, Aqeel AA, Sewairi WA, Boumah CE, Kambouris M, Mayouf SA, Sheth KV, Eid WA, Dowling O, Harris J, Glucksman MJ, Bahabri S, Meyer BF, Desnick RJ. Mutation of the matrix metalloproteinase 2 gene (MMP2) causes a multicentric osteolysis and arthritis syndrome. *Nat Genet.* 2001;28(3):261-5.
- Martin de Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Arch Oral Biol* 2000;45:757-765.
- Maruya Y, Sasano Y, Takahashi I, Kagayama M, Mayanagi H. Expression of extracellular matrix molecules, MMPS and TIMPs in alveolar bone, cementum and periodontal ligaments during rat tooth eruption. *J Electron Microsc (Tokyo).* 2003;52(6):593-604.
- Mazzoni A, Papa V, Nato F, Carrilho M, L, Ruggeri Jr. A, Gobbi P, Mazzotti G, Tay F. R., Pashley D. H, Breschi L. Immunohistochemical and biochemical assay of MMP-3 in human dentine. *J Dentistry.* 2011;39:231-237.
- Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Tjardhane L, Toledano M, et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities of phosphoric acid-etched dentin by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials* 27:4470-4476, 2006.

- Mazzoni A, Mannello F, Tay F.R, Tonti G.A.M, Papa S, Mazotti G, Di Lenarda R, Pashley D.H, Breschi L. Zymographic Analysis and Characterization of MMP-2 and -9 Forms in Human Sound Dentin. *J Dent Res* 86(5):436-440, 2007.
- McKern TW, Stewart TD. Chapter II- eruption of the third molars. 1957; [cited 2011 May 11]. Available from: [http:// ebookbrowse.com/ mckern-stewart-1957-part-2-pdf-d19870039](http://ebookbrowse.com/mckern-stewart-1957-part-2-pdf-d19870039).
- Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 1997;378:151-60.
- Menezes-Silva R, Khaliq S, Deeley K, Letra A, Vieira AR. Genetic Susceptibility to Periapical Disease: Conditional Contribution of MMP2 and MMP3 Genes to the Development of Periapical Lesions and Healing Response. *J Endod.* 2012 May ; 38(5): 604–607.
- Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem.* 1997;378 (3-4):151-60.
- Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274:21491-4.
- Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Tokyo: Quintessence Pub. Co. 1998.
- Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol.* 2000;18:1135-49
- Ness GM, Peterson LJ. Impacted Teeth In: Miloro M, editor. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2 nd ed. Hamilton: BC Decker Inc; 2004. P.139-55.
- NIH. (1980). Consensus development conference for removal of third molars. *J Oral Surg,* 38:235-236.
- Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, et al. (2006). Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci* 114:160-166.
- Niu L.N., L. Zhang , K. Jiao, F. Li , Y.X. Ding , D.Y. Wang, M.Q. Wang, F.R. Tay , J.H. Chen. Localization of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in human coronal dentine. *Journal of dentistry.* 2011;39:536-542.
- Oduanya SA, Abayomi IO. Third molar eruption among rural Nigerians. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991;71:151-154.
- Olson MW, Gervasi DC, Mobashery S, Fridman R. Kinetic analysis of the binding of human matrix metalloproteinase-2 and -9 to tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)- 1 and TIMP-2. *J Biol Chem* 1997;272:29975-29983.

- Overall CM, López-Otín C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:657-72.
- Omar AAH, Haglund C, Virolainen S, Häyry V, Atula T, Kontio R, Salo T, Sorsa T, Hagström J. MMP-7, MMP-8, and MMP-9 in oral and cutaneous squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2015;119:459-467.
- Öncel M. Matrix Metalloproteinases and Cancer. *Eur J Basic Med Sci*, 2012;2(3): 91-100.
- Pilcher BK, Dumin JA, Sudbeck BD, Krane SM, Welgus HG, Parks WC. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol*. 1997;137:1445-57.
- Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen Degradation by Host-derived Enzymes during Aging. *J Dent Res*, 2004;83(3):216-221.
- Radomski A, Jurasz P, Sanders EJ, Overall CM, Bigg HF, Edwards DR, Radomski MW. Identification, regulation and role of tissue inhibitor of metalloproteinases-4 (TIMP-4) in human platelets. *Br J Pharmacol*. 2002 Dec;137(8):1330-8.
- Ramamurthy NS, Rifkin BR, Greenwald RA, Xu JW, Liu Y, Turner G, Golub ML, Vernillo AT. Inhibition of matrix metalloproteinase-mediated periodontal bone loss in rats: a comparison of 6 chemically modified tetracyclines. *J Periodontol* 2002;73:726-734.
- Randall LE, Hall RC. Temporospatial expression of matrix metalloproteinases 1, 2, 3, and 9 during early tooth development. *Connective Tissue Research* 2002;43(2-3):205-11.
- Rasmussen HS, McCann PP. Matrix metalloproteinase inhibition as a novel anticancer strategy: a review with special focus on batimastat and marimastat. *Pharmacol Ther* 1997;75:69-75.
- Ravanti L, Häkkinen L, Larjava H, Saarialho-Kere U, Foschi M, Han J, Kähäri VM. Transforming growth factor-beta induces collagenase-3 expression by human gingival fibroblasts via p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem*. 1999;274(52):37292-300.
- Reboul, P., Pelletier, J.P, Tardif, G., Cloutier, J.M., and Martel-Pelletier, J. (1996). The new collagenase, collagenase-3, is expressed and synthesized by human chondrocytes but not by synoviocytes. *J. Clin. Invest.* 97:2011-2019.
- Reel B. Matrix Metalloproteinases and Atherosclerosis: Review. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2006, 26:527-537.
- Richardson ME. Changes in lower third molar position in the young adult. *Am J Orthod*
- Ries C. Cytokine functions of TIMP-1. *Cellular and Molecular Life Sciences*, February 2014, Volume 71, Issue 4, pp 659-672.

- Roberson TM, Heymann H, Swift EJ and Sturdevant CM. Sturdevant's art & science of operative dentistry. St. Louis: Mosby, 2002.
- Rodriguez D, Morrison CJ, Overall CM. Matrix metalloproteinases: what do they not do? new substrates and biological roles identified by murine models and proteomics. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1083(1):39-54.
- Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med*. 2005;9:267-85.
- Saarialho-Kere, U. K., Pentland, A. P., Birkedal-Hansen, H., Parks, W. C., and Welgus, H. G. Distinct populations of basal keratinocytes express stromelysin-1 and stromelysin-2 in chronic wounds. *J. Clin. Invest*. 94: 79, 1994.
- Sahlberg C, Reponen P, Tryggvason K, Thesleff I. Timp-1, -2 and -3 show coexpression with gelatinases A and B during Mouse tooth morphogenesis. *Eur J Oral Sci*. 1999;107(2):121-30.
- Sailer HF, Pajarola GF. Sürmemiş Dişler. In: Kişnişçi RŞ, Tüz HH. Diş Hekimliği Renkli Atlası Ağız Cerrahisi. Ankara: Palme Yayıncılık; 2004, p. 71-99.
- Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength—evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*. 1994 Jul; 10(4): 236-40.
- Sapna G, Gokul S, Bagri-Manjrekar K. Matrix metalloproteinases and periodontal diseases. *Oral Dis* 2014;20:538-50.
- Sasaki T, Garant PR. Structure and organization of odontoblasts. *Anat Rec*. 1996;245:235-249.
- Sartor L, Pezzato E, Dell'Aica I, Caniato R, Biggin S, Garbisa S. Inhibition of matrix-proteases by polyphenols: chemical insights for anti-inflammatory and anti-invasion drug design. *Biochem Pharmacol*. 2002; 64: 229-237.
- Sato H, Takino T, Okada Y, Cao J, Shinagawa A, Yamamoto E, et al. (1994). A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumour cells. *Nature* 370: 61-65.
- Sato H, Takino T, Kinoshita T, Imai K, Okada Y, Stetler-Stevenson WG. Cell surface binding and activation of gelatinase A induced by expression of membrane-type-1-matrix metalloproteinase (MT1-MMP). *FEBS Lett* (1996) 385:238-240.
- Stahle-Bäckdahl, M., Sandstedt, B., Bruce, K., Lindahl, A., Jimenez, M.G., Vega, J.A., and Lopez-Otin, C. (1997). Collagenase-3 (MMP-13) is expressed during human fetal ossification and re-expressed in postnatal bone remodeling and in rheumatoid arthritis. *Lab. Invest*. 76:717-728.
- Stathopoulos P, Mezitis M, Kappatos C, Titsinides S, Stylogianni E. Cysts and tumors associated with impacted third molars: is prophylactic removal justified? *J Oral Maxillofac Surg*. 2011;69(2):405-8.



- Shetty DC, Ahuja P, Urs AB, Bablani D, Paul M. Epidemiological status of 3rd molars-their clinical implications. *J Oral Health Comm Dent*. 2010;4(1):12-25.
- Shimada Y, Ichinose S, Sadr A, Burrow MF, Tagami J. Localization of matrix metalloproteinases (MMPs-2, 8, 9 and 20) in normal and carious dentine. *Australian Dental Journal* 2009; 54: 347–354.
- Söderholm Karl-Johan (2012). *Fracture of Dental Materials, Applied Fracture Mechanics*, Dr. Alexander Belov (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/48354. Available from: <http://www.intechopen.com/books/applied-fracture-mechanics/fracture-of-dental-materials>.
- Stamenkovic I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol*. 2003;200:448–64.
- Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol* 2007;52:121- 127.
- Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T, et al. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *J Dent Res* 2001;80:1545–9.
- Sulkala M, Pääkkönen V, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix Metalloproteinase-13 (MMP-13, Collagenase-3) is Highly Expressed in Human Tooth Pulp, *Connective Tissue Research*. 2004,45:4-5, 231-237.
- Swift EJ Jr, Perdigao J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995. *Quintessence Int*. 1995, Feb; 26(2):95-110.
- Ten Cate, AR. (1998). *Oral Histology: Development, Structure, and Function*. 5th ed. Mosby, St Louis. p.:95.
- Tetsch P, Wagner W. *Operative Extraction of Wisdom Teeth*. Worcester: Ebeneser Baylis & Son Ltd. 1990
- Tjäderhane L, Salo T, Larjava H, Larmas M, Overall CM. A novel organ culture method to study the function of human odontoblasts in vitro: gelatinase expression by odontoblasts is differentially regulated by TGF-beta1. *J Dent Res* 1998; 77: 1486–96. (a)
- Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 1998;77:1622-1629. (b)
- Tjäderhane L, Palosaari H, Sulkala M, Wahlgren J, Salo T. The expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in human odontoblasts. In: Ishikawa T, Takahashi K, Maeda T, Suda H, Shimono M, Inoue T, editors. *Proceedings of the international*

- conference on dentin/pulp complex 2001. Tokyo: Quintessence Publishing Co. Ltd.; 2001. p. 45–51.
- Trowbridge HO. Histology of pulpal inflammation. In: Seltzer and Benders Dental Pulp, Ed.: K. M. Hargreaves, H. E. Goodis. Eds. 4th Ed. Chicago: Quintessence Publishing Co. Inc; 2002: p.232-235.
- Türker M, Yüçetaş Ş. Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları ve Cerrahisi. 3. Baskı, Ankara, Özyurt Matbaacılık, 2004;223-25.
- Uijto VJ, Airola K, Vaalamo AM, Johansson N, Putnins EE, Firth JD, Salonen J, Lopez-Otfn C, Saarialho-Kere U, Kähäri VM. Collagenase-3 (Matrix Metalloproteinase-13) Expression Is Induced in Oral Mucosal Epithelium during Chronic Inflammation. *American Journal of Pathology*, Vol. 152, No. 6, June 1998.
- Vaalamo, M., Weckroth, M., Puolakkainen, P., Kere, J., Saarinen, P., Lauharanta, J., and Saarialho-Kere, U. K. Patterns of matrix metalloproteinase and TIMP-1 expression in chronic and normally healing human cutaneous wounds. *Br. J. Dermatol.* 135: 52, 1996.
- Van Strijp AJP, Jansen DC, Degroot J, Ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentin collagen in situ. *Caries Res* 2003;37:58-65.
- Varun BR, Bindu JN, Sivakumar TT, Anna PJ. Matrix metalloproteinases and their role in oral diseases: a review *Oral & Maxillofacial Pathology Journal [OMPJ]*. 2012;3(1):186-91.
- Varrela J. Occurrence of malocclusion in attritive environment: a study of a skull sample from southwest Finland. *Scand J Dent Res.* 1990; 98: 242-247.
- Ventä I, Turtola L, Ylipaavalniemi P. Radiographic follow-up of impacted third molars from age 20 to 32 years. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001;30(1):54-7.
- Verstappen J, Von den Hoff JW. Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs): Their Biological Functions and Involvement in Oral Disease. *J Dent Res* 2006;85:1074-1084.
- Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003;92;827-39.
- Von Wowern N, Nielsen HO. The fate of impacted lower third molars after the age of 20. A four-year clinical follow-up. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1998;18(5):277-80.
- Yazıcı Semih, Kökden Ayça, Tanık Aydın. Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi Cilt 5, Sayı 2, 2002.
- Wahlgren J. Matrix metalloproteinases in pulpitis, chronic apical periodontitis and odontogenic jaw cysts. Doctoral Thesis. University of Helsinki, Faculty of Medicine; 2003. Available from URL: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/laa/hamma/vk/wahlgren/matrixme.pdf>

- Waite PD, Reynolds RR. Surgical management of impacted third molars. *Semin Orthod.* 1998;4(2):113-23.
- Wang Guo-Wei, Wang Mei-Qing, Wang Xiao-Jing, Yu Shi-Bin, Liu Xiao-Dong, Jiao Kai. Changes in the expression of MMP-3, MMP-9, TIMP-1 and aggrecan in the condylar cartilage of rats induced by experimentally created disordered occlusion. *Archives of Oral Biology.* 2010;55: 887-895.
- Wang D, Zhang L, Fan J, Li F, Ma K, Wang P, Chen J. Matrix metalloproteinases in human sclerotic dentine of attrited molars. *Archives of Oral Biology.* 2012;57:1307-1312.
- Welgus HG, Campbell EJ, Cury JD, Eisen AD, Senior RM, Wilhelm SM, Goldberg GL. Neutral metalloproteinases produced by human mononuclear phagocytes: Enzymatic profile, regulation, and expression during cellular development. *J. Clin. Invest.* 86: 1496, 1990.
- Young, P. K., and Grinnell, F. Metalloproteinase activation cascade after burn injury: A longitudinal analysis of the human wound environment. *J. Invest. Dermatol.* 103: 660, 1994.
- Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev.* 2000;14: 163-176.
- Zeitler DL. Management of impacted teeth other than third molars. In: Milaro M, editor. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2nd ed. Hamilton: BC Decker Inc; 2004.p.131-7.
- Zurac S, Neagu M, Constantin C, Cioplea M, Nedelcu R, Bastian A, Popp C, Nichita L, Andrei R, Tebeica T, Tanase C, Chitu V, Caruntu C, Ghita M, Popescu C, Boda D, Mastalier B, Maru N, Daha C, Andreescu B, Marinescu I, Rebosapca A, Staniceanu F, Negroiu G, Ion DA, Nikitovic D, Tzanakakis GN, Spandidos DA, Tsatsakis AM. Variations in the expression of TIMP1, TIMP2 and TIMP3 in cutaneous melanoma with regression and their possible function as prognostic predictors. *ONCOLOGY LETTERS* 11: 3354-3360, 2016.

## 7. EKLER

### EK-A : Etik Kurul Kararı



SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR  
DEĞERLENDİRME KOMİSYONU


Toplantı Sayısı : 2014/02


Toplantı Tarihi : 04.12.2014

Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalından Prof.Dr.Hasan KÜÇÜKKOLBAŞI'nın ve aynı Anabilim Dalından Dt.N.Burcu BAYRAK tarafından sunulan "**Matriks Metalloproteinazların Yirmi Yaş Dişinin Gömülü Kalması Üzerine Etkisinin Zimografi Yöntemiyle Dentin Dokusunda Araştırılması**" araştırma projesi 10 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Değerlendirme sonucunda, Projenin, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Yönergesi İlkelerine uygun olduğundan "**kabulüne**" oybirliği ile karar verildi.

  
Prof.Dr.Bora ÖZTÜRK  
Üye

  
Prof.Dr.Nilgün ÖZTÜRK  
Üye

  
Doç. Dr. Esra ÜLKER  
Üye

Prof.Dr.Doğan DOLANMAZ  
Katılmadı


Prof.Dr.Sema S.HAKKI  
Katılmadı

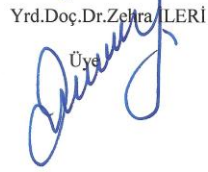
  
Prof.Dr.Duygu HINDİK  
Üye

  
Prof.Dr.Ender ERDOĞAN  
Üye

Prof.Dr.Ayçe ELDENİZ  
Üye

  
Prof.Dr.Faruk AKGÜNLÜ  
Üye

  
Doç. Dr. Gül TOSUN  
Üye

  
Yrd.Doç.Dr.Zehra ALERİ  
Üye

Yrd.Doç.Dr.Hüsamettin VATANSEV  
Katılmadı

  
Doç.Dr.K.Hakan DOĞAN  
Üye



SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR  
DEĞERLENDİRME KOMİSYONU


Sayı: 02  
Konu: 2014/02 sayılı komisyon kararları

17.12.2014


Sayın; Prof.Dr.Hasan KÜÇÜKKOLBAŞI

Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun 04.12.2014 tarihinde yapılan 2014/02 sayılı toplantısında yürütücüsü olduğunuz **"Matriks Metalloproteinazların Yirmi Yaş Dişinin Gömülü Kalması Üzerine Etkisinin Zimografi Yöntemiyle Dentin Dokusunda Araştırılması"** konu başlıklı projenin, bilimsel etik açısından uygun olduğuna oy birliği ile karar verildi.

Gereğini bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

  
Prof. Dr. Bora ÖZTÜRK  
Komisyon Başkanı V.

## EK-B : Bilgilendirilmiş Hasta Onam Formu

 SELÇUK ÜNİVERSİTESİ DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ	<b>AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI</b> <b>BİLGİLENDİRİLMİŞ HASTA ONAM FORMU</b>	Doküman No	YÖN.FR.63
		Yürürlüğe Gir. Tar.	01.06.2015
		Revizyon No	00
		Revizyon Tarihi	01.06.2015
		Sayfa No	Sayfa 1 / 1

### BİLGİLENDİRME

Cerrahi girişim ya da diş çekimi uygulanacak hastaların genel sağlık durumları hekim tarafından cerrahi işlem yapmaya uygun görülmez ise bir takım tetkikler ve ilgili doktorlardan görüş istenebilir.

Diş çekimi ya da cerrahi işlemler öncesinde yapılacak olan anestezideye bağlı alerjik ve toksik reaksiyonlar, geçici yüz felci gibi istenmeyen durumlar; işlemler sırasında ise çevre sert ve yumuşak dokularda yaralanma, diş kök kırılmaları, çene ekleminin çıkması, dişin çevre dokulara (sinüse vb.) kaçması; işlem sonrasında ağrı, kanama, ateş, morama, şişlik enfeksiyon ve sinir yaralanmasına bağlı dilde, dudakta uyuşukluk, ağız açamama, yutkunma, yeme ve konuşmada zorluk, eklem hasarı vb. komplikasyonlar oluşabilir.

Çenelerdeki dişsiz bölgelere implant uygulamaları yapılması sırasında çevre dokuların düzenlenmesine yönelik doku transferleri ve greft uygulamaları, ileri cerrahi tetkikler (Sinüs tabanı yükseltilmesi, kemik genişletilmesi ve yükseltilmesi vb) uygulanabilir. Bütün bu uygulamalar ve implant yerleştirilmesi sonrası ağrı, geçici yada kalıcı uyuşukluk, implant ve ilave kemiğin kaybı veya reddedilmesi gibi komplikasyonlarla karşılaşılabilir.

Kliniğimizde yapılan her türlü işlem sonrası hekim önerilerine kesinlikle uyulmalı, kontroller ve dikişlerin alınması için verilen randevulara düzenli gelinmelidir. Aksi halde iyileşme ile ilgili sorunlar yaşanabileceği bilinmelidir.

### HASTANIN TEDAVİ İÇİN ONAYI

Bilgilendirme bölümündeki açıklamaları okudum ve komplikasyonlar hakkında bilgi edindim. Genel sağlık durumumla ilgili sorunları sorularda hiçbir eksik bilgi bırakmadım. Hiçbir şeyi gizlemeden açıkça anlattım benden istenen gerekli tetkikleri tam olarak yaptırdım. Benimle ilgili olan tedavi ya da tedavilerin uygulanmasını, tedavi sırasında ya da sonrasında olabilecek tüm komplikasyonların bilincinde ve benim sorumluluğumda olduğunu, olası bir durumda bir uzman tarafından tedavi edilmemi ya da başka bir hastanede tedavi görmem gerekirse sevk edilmeyi kabul ediyorum.

Uygulanacak tedavi/tedavilerin Selçuk Üniversitesi Diş hekimliği Fak. Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı Kliniği ve ameliyathanesinde Asistan, Yrd.Doç.Dr., Doç.Dr. ve Prof.Dr. unvanına sahip hekimlerin gözetimi altında stajyer diş hekimleri tarafından anestezi, diş çekimi, pansuman dikiş atmak gibi uygulamaların yapılmasına, eğitim ve bilimsel amaçlı fotoğraf ve video görüntülerinin alınmasına izin veriyorum.

Tarih ...../...../20....

Hastanın TC Kimlik No		<b>İMZA</b>
Hastanın Telefon No		
Hastanın Adı-Soyadı		
Hastanın Yasal Temsilcisi (*) – yakınlık derecesi		
Sorumlu Hekimin Adı-Soyadı		

\* Yasal Temsilci: Vasiyet altındakiler için vasi, reşit olmayanlar için anne - baba, bunların bulunmadığı durumlarda 1. Derece kanuni mirasçılardır. (Hasta yakınının isminin yanında yakınlık derecesini belirtiniz)

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Ankara'da doğdu. 2006 yılından Mamak Cumhuriyet Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 2006 yılında başladığı Başkent Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni 2011 yılında ikincilikle tamamladı. 2012 sonbahar döneminde yapılan DUS ile Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimine başladı.

